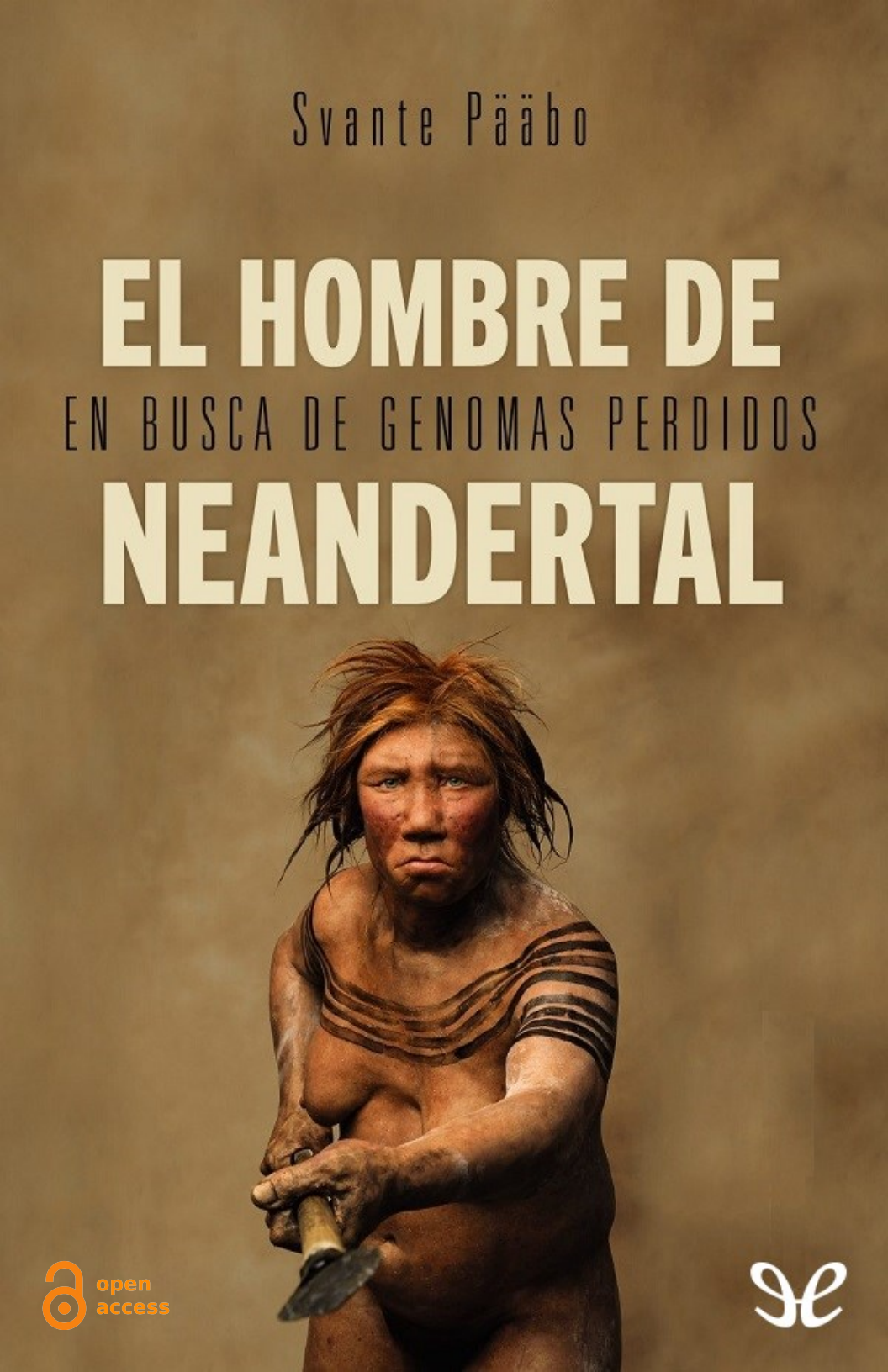
Svante Pääbo

EL HOMBRE DE NEANDERTAL

EN BUSCA DE GENOMAS PERDIDOS



open access

¿Qué podemos aprender de los genomas de nuestros parientes evolutivos más cercanos? El hombre de Neandertal cuenta la historia de la misión del genetista Svante Pääbo de contestar esta pregunta, y narra sus esfuerzos por definir genéticamente lo que nos distingue de nuestros primos neandertales. Empezando con el estudio del DNA de momias egipcias, a principios de los años 80, y culminando con la secuenciación del genoma neandertal, en 2010, El hombre de Neandertal describe los acontecimientos, intrigas, fracasos y triunfos de estos años científicamente tan ricos a través de la lente del pionero e inventor del campo del DNA antiguo.

epublibre

Svante Pääbo

EL HOMBRE DE NEANDERTAL

En busca de genomas perdidos

ePub r1.1
Titivillus 14.07.18

Título original: *El hombre de Neandertal*
Svante Pääbo, 2014
Traducción: Federico Zaragoza Alberich
Editor digital: Titivillus
ePub base r1.2

Esta obra se encuentra disponible en Acceso Abierto para copiarse, distribuirse y transmitirse con propósitos no comerciales. Todas las formas de reproducción, adaptación y/o traducción por medios mecánicos o electrónicos deberán indicar como fuente de origen a la obra y su(s) autor(es).

Para Linda, Rune y Freja

PREFACIO

La idea de escribir este libro me fue sugerida por primera vez por John Brockman. Sin su iniciativa y sus ánimos, nunca me hubiera tomado el tiempo de escribir un manuscrito mucho más largo que los breves artículos científicos que acostumbro firmar. Sin embargo, una vez que me puse a ello, disfruté del proceso. ¡Gracias por conseguir que ocurriera!

Muchas personas me han ayudado leyendo el texto y sugiriéndome mejoras. En primer lugar, le doy las gracias a mi mujer, Linda Vigilant, quien además siempre apoyó mi esfuerzo, aunque ello supusiera estar alejado de la familia. Fueron excelentes editores Sarah Lippincot, Carol Rowney, Christine Arden y, sobre todo, Tom Kelleher, de Basic Books. Espero haber aprendido de ellos. Carl Hannestad, Kerstin Lexander, Viola Mittag y otros leyeron partes o la totalidad del texto y me hicieron sugerencias útiles. Souken Danjo me proporcionó hospitalidad en Saikouji durante parte del tiempo en que necesité retirarme del mundo.

Relato los acontecimientos según los recuerdo. Pero sospecho que puedo haber mezclado o confundido algunos en concreto aquí y allá —por ejemplo, a propósito de varias reuniones y viajes a Berlín, a la empresa 454 Life Sciences, etcétera—. También, como es obvio, relato los acontecimientos desde mi propia experiencia subjetiva, intentando darles crédito (y lo contrario) cuando, en mi opinión, es preciso. Soy consciente de que esta perspectiva no es la única manera posible de considerar estos acontecimientos. Para no recargar el texto con demasiados nombres y detalles, me he contenido a la hora de mencionar a muchas personas que sin embargo eran importantes. Pido disculpas a todas las que se sientan indebidamente ignoradas.

CAPÍTULO 1

NEANDERTAL *EX MACHINA*

Una noche de 1996, tarde, cuando acababa de adormilarme en la cama, sonó mi teléfono. Quien llamaba era Matthias Krings, un estudiante de grado de mi laboratorio en el Instituto zoológico de la Universidad de Múnich. Todo lo que dijo fue: «No es humano».

«Voy para allá», murmuré, me puse algo de ropa, y atravesé la ciudad en coche hacia el laboratorio. Aquella tarde, Matthias había puesto en marcha nuestras máquinas de secuenciación de DNA, alimentándolas con fragmentos de DNA que había extraído y amplificado a partir de un fragmento de hueso de un brazo neandertal conservado en el Rheinisches Landesmuseum de Bonn. Años de resultados decepcionantes me habían enseñado a mantener bajas mis expectativas. Con toda probabilidad, lo que fuera que hubiéramos extraído sería DNA bacteriano o humano que se hubiera infiltrado en el hueso en algún momento de los 140 años desde que se había desenterrado. Pero por teléfono Matthias sonaba emocionado. ¿Podía haber recuperado material genético de un neandertal? Parecía demasiado esperar.

En el laboratorio me encontré a Matthias con Ralf Schmitz, un joven arqueólogo que nos había ayudado a conseguir el permiso para sacar el fragmento de hueso del brazo del fósil neandertal almacenado en Bonn. Apenas podían controlar su entusiasmo al mostrarme la tira de A, C, G y T que salía de uno de los secuenciadores. Ni ellos ni yo habíamos visto nada igual hasta entonces.

Lo que para los no iniciados puede parecer una secuencia casual de cuatro letras es de hecho la abreviatura de la estructura química del DNA, el material genético almacenado casi en cada célula del cuerpo. Las dos cadenas de la famosa doble hélice de DNA se componen de unidades que contienen los nucleótidos

adenina, timina, guanina y citosina, abreviados A, T, G y C. El orden en el que aparecen estos nucleótidos establece la información genética necesaria para formar nuestro cuerpo y dar soporte a sus funciones. La pieza concreta de DNA que estábamos viendo era parte del genoma mitocondrial —abreviado, mtDNA— que se transmite en las células del óvulo de todas las madres a sus hijos. Varios centenares de copias de este mtDNA se almacenan en las mitocondrias, diminutas estructuras en las células, y este mtDNA especifica la información necesaria para que estas estructuras cumplan su función de producir energía. Cada uno de nosotros tiene solo un tipo de mtDNA, que comprende un mero 0,0005% de nuestro genoma. Como tenemos en cada célula muchos miles de copias de solo ese único tipo, es bastante fácil de estudiar, a diferencia del resto de nuestro DNA, del cual solo hay dos copias almacenadas en el núcleo de la célula, una de nuestra madre y una de nuestro padre. En 1996 ya se habían estudiado secuencias de mtDNA en miles de humanos de todo el mundo. Normalmente, estas secuencias se comparaban con la primera secuencia determinada de mtDNA humano, y a su vez esta secuencia de referencia común pudo utilizarse para elaborar una lista de qué diferencias se veían en qué posiciones. Lo que nos emocionaba era que la secuencia que habíamos determinado del hueso neandertal contenía cambios que no se habían visto en ninguna de las de miles de humanos. Apenas podía creerme que lo que estábamos viendo fuera real.

Como siempre me ocurre frente a resultados emocionantes o inesperados, fui pronto presa de las dudas. Busqué cualquier posibilidad de que pudiéramos estar equivocados. Quizá alguien había utilizado cola elaborada con piel de vaca para tratar los huesos en algún momento, y estábamos viendo mtDNA de vaca. No: lo comparamos de inmediato con mtDNA de vaca (que otros habían secuenciado ya) y descubrimos que era muy distinto. Esta nueva secuencia de mtDNA estaba claramente cerca de

las secuencias humanas, aunque era un poco distinta de todas ellas. Empecé a pensar que, en efecto, esta era la primera muestra de DNA extraída y secuenciada de una forma humana extinguida.

Abrimos una botella de champán que guardábamos en un frigorífico de la sala de café del laboratorio. Sabíamos que, si lo que estábamos viendo era de verdad DNA neandertal, se habían abierto enormes posibilidades. Podría ser posible algún día comparar genes completos, o cualquier gen específico, de neandertales con los genes correspondientes a personas vivas actuales. Mientras volvía a casa andando por un Múnich oscuro y callado (había tomado demasiado champán como para conducir), apenas podía creer lo que había ocurrido. De vuelta a la cama, no pude dormir. Seguí pensando en los neandertales, y en el espécimen cuyo mtDNA parecía que acabábamos de capturar.

En 1856, tres años antes de la publicación de *El origen de las especies* de Darwin, los trabajadores que despejaban una pequeña cueva en una cantera en el valle de Neander, unos diez kilómetros al este de Düsseldorf, descubrieron la parte superior de un cráneo y algunos huesos que pensaron que procedían de un oso. Pero en pocos años los restos fueron identificados como los de una forma de humano extinta, quizá ancestral. Esta era la primera vez que se habían descrito este tipo de restos, y el hallazgo sacudió el mundo de los naturalistas. A lo largo de los años, se ha continuado investigando sobre estos huesos y muchos más como ellos encontrados desde entonces, tratando de discernir quiénes eran los neandertales, cómo vivían, por qué desaparecieron hace unos 30 000 años, cómo interactuaron con ellos nuestros ancestros modernos a lo largo de miles de años de coexistencia en Europa, y si eran amigos o enemigos, nuestros ancestros o simplemente nuestros primos perdidos (ver ilustración 1.1[*]). Surgían de los yacimientos arqueológicos impactantes muestras de comportamientos que nos son familiares, como el cuidado de los he-

ridos, los enterramientos rituales, y quizá incluso la producción de música, y nos decían que los neandertales se parecían mucho más a nosotros que cualquier simio vivo. ¿Cómo eran de parecidos? Si sabían hablar, si eran la última rama del árbol de la familia de los homínidos, o si alguno de sus genes están ocultos en nosotros hoy, son todas preguntas que se han convertido en parte integrante de la paleoantropología, la disciplina académica que se puede decir que se inició con el descubrimiento de aquellos huesos en el valle de Neander, de los que parecíamos capaces de extraer ahora información genética.

Por interesantes que fueran estas preguntas en sí mismas, me parecía que el fragmento de hueso neandertal encerraba la promesa de un premio aún mayor. Los neandertales son los parientes próximos más cercanos de los humanos contemporáneos. Si pudiéramos estudiar su DNA, sin duda podríamos encontrar que sus genes eran muy semejantes a los nuestros. Algunos años atrás, mi grupo había secuenciado un gran número de fragmentos de DNA del genoma de chimpancé y había mostrado que en las secuencias que compartíamos con los chimpancés, solo difería un porcentaje de nucleótidos algo superior al 1%. Está claro que los neandertales tienen que estar mucho más cerca de nosotros que esto. Pero —y esto es lo que era muy emocionante— entre las pocas diferencias que uno esperaría encontrar en el genoma neandertal, tienen que estar las que nos separan de todas las formas anteriores de predecesores humanos: no solo de los neandertales, sino también del muchacho de Turkana, que vivió hace unos 1,6 millones de años; de Lucy, hace unos 3,2 millones de años; y del «hombre de Pekín», hace más de medio millón de años. Estas pocas diferencias tienen que constituir los cimientos biológicos de la dirección radicalmente nueva que tomó nuestro linaje con el surgimiento de los humanos modernos; el advenimiento de una tecnología de desarrollo rápido, del arte en una forma que hoy reconocemos inmediatamente como arte, y quizá

del lenguaje y la cultura como los conocemos hoy. Si pudiéramos estudiar el DNA neandertal, todo esto estaría a nuestro alcance. Arropado por estos sueños (o ilusiones de grandeza), acabé cayendo en el sueño al amanecer.

Al día siguiente, tanto Matthias como yo llegamos tarde al laboratorio. Después de comprobar la secuencia de DNA de la noche anterior para asegurarnos de que no habíamos cometido errores, nos sentamos y planificamos qué había que hacer a continuación. Una cosa era conseguir la secuencia de un trocito de mtDNA del fósil neandertal que parecía interesante, pero otra bien distinta sería convencernos, y no digamos convencer al resto del mundo, de que era mtDNA de un individuo que vivió (en este caso concreto) hacía unos 40 000 años. Mi propio trabajo a lo largo de los doce años anteriores dejaba bastante claro nuestro siguiente paso. Primero, necesitábamos repetir el experimento —no solo los últimos pasos, sino todos ellos, empezando con un nuevo trozo de hueso para demostrar que la secuencia que habíamos obtenido no era una casualidad derivada de una molécula moderna muy estropeada y modificada del mtDNA del hueso —. Segundo, necesitábamos amplificar la secuencia de mtDNA que habíamos conseguido recuperando fragmentos de DNA superpuestos en el extracto de hueso. Esto nos permitiría reconstruir una secuencia de mtDNA más larga, con la cual podríamos empezar a apreciar cómo de distinto era el mtDNA de los neandertales del de los humanos actuales. Y hacía falta un tercer paso. Yo mismo había sugerido a menudo que las afirmaciones extraordinarias sobre secuencias de DNA de huesos antiguos requerían pruebas extraordinarias, a saber, la repetición de los resultados en otro laboratorio, un paso inusual en un campo científico muy competitivo. La afirmación de que habíamos recuperado DNA neandertal sin duda sería considerada extraordinaria. Para excluir fuentes desconocidas de error en nuestro laboratorio, necesitábamos compartir una parte del precioso material óseo con

un laboratorio independiente y esperar que se las pudiera arreglar para repetir nuestro resultado. Todo esto lo discutí con Matthias y Ralf. Trazamos planes de trabajo y nos juramos a nosotros mismos guardar absoluto secreto fuera de nuestros grupos de investigación. No queríamos atención ninguna hasta estar seguros de que lo que teníamos era de verdad.

Matthias empezó a trabajar enseguida. Como se había pasado casi tres años en intentos infructuosos de extraer DNA de momias egipcias, le llenaba de energía la perspectiva del éxito. Ralf parecía frustrado por tener que volver a Bonn, donde no podía hacer más que esperar con ansiedad noticias de nuestros resultados. Intenté concentrarme en otros proyectos míos, pero era difícil quitarme de la cabeza lo que Matthias estaba haciendo.

Lo que Matthias necesitaba hacer no era tan fácil. Después de todo, estábamos lidiando con algo distinto del DNA intacto y prístino que procede de una muestra de sangre extraída de una persona viva. La molécula limpia y nítida de doble cadena de DNA helicoidal de los libros de texto —con sus nucleótidos A, T, G y C, sujetos en pares complementarios (adenina con timina, guanina con citosina) a las dos columnas vertebrales de azúcar-fosfato— no es una estructura química estática cuando está almacenada en los núcleos y mitocondrias de nuestras células. Por el contrario, el DNA sufre constantemente daños químicos, que son localizados y reparados por medio de intrincados mecanismos. Además, las moléculas de DNA son muy largas. Cada uno de los veintitrés pares de cromosomas del núcleo constituye una enorme molécula de DNA; la longitud total de un conjunto de veintitrés cromosomas alcanza los 3200 millones de pares de nucleótidos. Como el núcleo tiene dos pares de cada genoma (cada copia almacenada en un conjunto de veintitrés cromosomas, de los cuales heredamos uno de nuestra madre y uno de nuestro padre), contiene unos 6400 millones de pares de nucleótidos. En comparación, el DNA mitocondrial es diminuto, con un poco

más de 16 500 pares de nucleótidos; pero dado que el mtDNA que teníamos era antiguo, el reto implicado en la secuenciación era grande.

El tipo más común de daño que se da de forma espontánea en las moléculas de DNA, ya sea DNA nuclear o mtDNA, es la pérdida de un componente químico, un grupo amino, del nucleótido citosina (C), lo cual le convierte en un nucleótido que no se da de manera natural en el DNA llamado uracilo, abreviado U. Hay sistemas de enzimas en las células que suprimen estos U y los sustituyen por el nucleótido correcto C. Los U descartados acaban como basura celular, y del análisis de los nucleótidos dañados excretados en nuestra orina se ha calculado que se transforman en U cada día unos diez mil C por célula, solo para ser suprimidos y después sustituidos. Y este es solo uno de los diversos tipos de ataques químicos que nuestro genoma sufre. Por ejemplo, se pierden nucleótidos, dejando lugares vacíos que provocan rápidamente la rotura de las cadenas de moléculas de DNA. Luchando contra ello hay enzimas que llenan esos nucleótidos que faltan antes de que se pueda dar una rotura. Si no se da una rotura, otras enzimas vuelven a unir las moléculas de DNA. De hecho, los genomas de nuestras células no permanecerían intactos ni siquiera una hora si no existieran estos sistemas de reparación para mantenerlos.

Estos sistemas de reparación requieren por supuesto energía para funcionar. Cuando nos morimos, dejamos de respirar; las células de nuestro cuerpo se quedan entonces sin oxígeno, y como consecuencia su energía se acaba. Esto detiene la reparación del DNA, y se acumulan con rapidez varios tipos de daño. Además del daño químico espontáneo que se da continuamente en las células vivas, hay tipos de daño que se dan después de la muerte, una vez que las células empiezan a descomponerse. Una de las funciones esenciales de las células vivas es mantener compartimentos en los que las enzimas y otras sustancias se mantie-

nen separadas unas de otras. Algunos de estos compartimentos contienen enzimas que pueden cortar cadenas de DNA y son necesarias para ciertos tipos de reparación. Otros compartimentos contienen enzimas que separan el DNA de diversos microorganismos que la célula puede encontrarse y absorber. Una vez que un organismo muere y se queda sin energía, las membranas del compartimento se deterioran, y estas enzimas se filtran y empiezan a degradar el DNA de manera incontrolada. En unas horas y a veces días después de la muerte, las cadenas de DNA de nuestro cuerpo se cortan en trozos cada vez más pequeños, mientras que se acumulan otras diversas formas de daño. Al mismo tiempo, las bacterias que viven en nuestros intestinos y pulmones empiezan a crecer de manera incontrolada cuando nuestro cuerpo fracasa en mantener las barreras que normalmente las contienen. Estos procesos acabarán disolviendo la información genética contenida en nuestro DNA, la información que una vez permitió que nuestro cuerpo se formara, se mantuviera y funcionara. Cuando este proceso se completa, el último rastro de nuestra unidad biológica ha desaparecido. En cierto sentido, es entonces cuando nuestra muerte está completa.

Sin embargo, casi cada una de los billones de células de nuestro cuerpo contiene el conjunto completo de nuestro DNA. Así, aunque el DNA de algunas células de algún rincón remoto de nuestro cuerpo escape a la descomposición completa, sobrevivirá algún vestigio de nuestra composición genética. Por ejemplo, los procesos enzimáticos que degradan y modifican el DNA requieren agua para funcionar. Si algunas partes de nuestro cuerpo se desecan antes de que la degradación del DNA haya completado su curso, estos procesos se detendrán, y algunos fragmentos de nuestro DNA pueden sobrevivir un tiempo más largo. Esto ocurre, por ejemplo, cuando se deposita un cuerpo en un lugar seco donde se momifica. Esta desecación de todo el cuerpo puede darse de forma accidental, debido al entorno en el que el cuerpo

ha terminado, o puede darse de forma deliberada. Como es sabido, en el antiguo Egipto se llevaba a cabo a menudo la momificación ritual de los muertos y los cuerpos de cientos de miles de personas que vivieron entre hace 5000 y 1500 años fueron momificados para proporcionar moradas *post mortem* a sus almas.

Aun cuando no se produzca la momificación, algunas partes del cuerpo, como los huesos y los dientes, puede sobrevivir durante mucho tiempo después del entierro. Estos tejidos duros contienen células, responsables de tareas como formar nuevo hueso cuando un hueso se rompe, que están alojadas en orificios microscópicos. Cuando estas células de hueso mueren, su DNA puede filtrarse y ligarse al componente mineral del hueso, donde puede escudarse contra un ataque enzimático posterior. Así, con suerte, puede sobrevivir algo de DNA al embate de la degradación y el daño que se da en las inmediatas secuelas de la muerte.

Pero incluso cuando parte del DNA sobrevive al caos corporal que sigue a la muerte, otros procesos seguirán degradando nuestra información genética, aunque a un ritmo más lento. Por ejemplo, el flujo continuo de radiación medioambiental que choca contra la Tierra desde el espacio crea moléculas reactivas que modifican y rompen el DNA. Aún más, los procesos que requieren agua —como la pérdida de los grupos amino del nucleótido C, que se transforman en nucleótidos U— continúan incluso cuando se conserva el DNA en condiciones relativamente secas. Ello se debe a que el DNA tiene tal afinidad con el agua que incluso en entornos secos las moléculas de agua están casi siempre ligadas a los enlaces entre las dos cadenas de DNA, permitiendo que se den reacciones químicas hidrodependientes espontáneas. La pérdida del grupo amino, o desaminación, del nucleótido C es uno de los más rápidos de estos procesos, y desestabilizará el DNA hasta que sus cadenas acaben por romperse. Estos y otros procesos, la mayoría aún desconocidos, continúan deteriorando nuestro DNA incluso cuando ha sobrevivido a los

estragos que la muerte misma causa a nuestras células. Aunque la tasa de expoliación dependerá de muchas circunstancias, como la temperatura, acidez, y más, está claro que incluso bajo condiciones favorables, en último término incluso los últimos fragmentos de información del programa genético que hizo posible a una persona acabarán por ser destruidos. Parece que en el hueso neandertal que mis colegas y yo habíamos analizado, todos estos procesos no habían completado del todo su tarea destructiva después de 40 000 años.

Matthias había recuperado la secuencia de un trozo de mtDNA de una longitud de 61 nucleótidos. Para hacerlo, tuvo que fabricar muchas copias de este fragmento de DNA, lo cual implicaba un procedimiento llamado reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). En este intento por confirmar nuestro hallazgo, empezó repitiendo su experimento de PCR tal y como lo había hecho la primera vez. Este experimento supone utilizar dos piezas cortas sintéticas de DNA llamadas cebadores, que fueron diseñadas para enlazar los dos lugares del mtDNA, separados de 61 pares de nucleótidos. Estos cebadores se mezclan con una cantidad diminuta del DNA extraído del hueso y una enzima llamada DNA polimerasa que puede sintetizar nuevas secuencias de DNA que empiezan y acaban en los cebadores. La mezcla es calentada para permitir que las dos secuencias de DNA se separen, de manera que los cebadores puedan encontrar y enlazarse con sus secuencias diana cuando la mezcla se enfría, emparejando A con T y G con C. La enzima utilizará entonces los cebadores enlazados a las secuencias de DNA como puntos de partida para sintetizar dos nuevas secuencias, duplicando las dos secuencias originales del hueso, de manera que estas dos secuencias originales se conviertan en cuatro secuencias. Este procedimiento de amplificación se repite para producir ocho secuencias, y luego de nuevo para producir dieciséis, y lue-

go treinta y dos, y así sucesivamente hasta un total de treinta o cuarenta turnos de duplicación.

La PCR, una técnica simple, aunque elegante, inventada por el científico disidente Kary Mullis en 1983, es muy poderosa. A partir de un solo fragmento de DNA, se puede obtener en principio más o menos un billón de copias, después de cuarenta ciclos. Esto es lo que hizo posible nuestro trabajo, por lo que en mi opinión Mullis se merecía el Premio Nobel de Química que se le concedió en 1993. Sin embargo, la exquisita sensibilidad de la PCR también dificultó nuestro trabajo. En un extracto de un hueso antiguo, que puede contener muy pocas moléculas supervivientes, o ninguna, de DNA antiguo, podría haber una o más moléculas de DNA humano moderno que hubieran contaminado el experimento: a partir de los productos químicos utilizados, los artículos de plástico del laboratorio o el polvo del aire. Las partículas de polvo de las habitaciones en las que viven los humanos, son, en gran medida, fragmentos de piel humana, que contienen células llenas de DNA. Otra posibilidad es que el DNA humano hubiera contaminado la muestra cuando la hubiera manejado una persona en, pongamos, un museo o una excavación. Fue con estas preocupaciones en la cabeza como escogimos estudiar la secuencia de la parte más variable del mtDNA neandertal. Como muchos humanos difieren entre ellos en esa parte en particular, por lo menos podríamos decir si había más de un humano que hubiera aportado DNA a nuestro experimento y así estar advertidos de que algo faltaba. Por esto estábamos tan emocionados por haber encontrado una secuencia de DNA con cambios nunca vistos antes en ningún humano; si la secuencia hubiera parecido la de un humano vivo, no habríamos tenido forma de determinar si ello quería decir, por una parte, que el de neandertal era efectivamente idéntico al mtDNA de algunas personas de hoy, o, por otra parte, que estábamos viendo solo un fragmento de DNA moderno que se había abierto camino en

nuestros experimentos desde alguna fuente insidiosa, como una mota de polvo.

Para entonces, yo ya estaba muy familiarizado con el hecho de la contaminación. Había estado trabajando durante más de doce años en la extracción y análisis de DNA antiguo de mamíferos extintos como osos de las cavernas, mamuts lanudos y perezosos gigantes. Después de una serie de resultados frustrantes (detecté DNA humano en casi todos los huesos de animales que analicé con la PCR), pasé muchísimo tiempo pensando y diseñando maneras de minimizar la contaminación. Así, Matthias llevó a cabo todas las extracciones y otros experimentos, hasta el primer ciclo de temperatura de la PCR, en un pequeño laboratorio que manteníamos meticulosamente limpio y separado por completo del resto de nuestro laboratorio. Una vez que se habían puesto en un tubo los antiguos DNA, los cebadores y los demás componentes necesarios, el tubo se sellaba, y los ciclos de temperatura y todos los experimentos subsiguientes se llevaban a cabo en el laboratorio normal. En el laboratorio limpio se fregaban todas las superficies con lejía una vez por semana, y todas las noches se irradiaba el laboratorio con luz ultravioleta para destruir cualquier DNA traído por el polvo. Matthias entraba en el laboratorio limpio a través de una antecámara, en la que él y los demás que trabajaban allí se ponían batas protectoras, máscaras faciales, gorros para el cabello y guantes estériles. Todos los reactivos e instrumentos se llevaban directamente al laboratorio limpio; no se permitía que entrara nada procedente de otros lugares del Instituto. Matthias y sus colegas tenían que iniciar su día de trabajo en el laboratorio limpio en lugar de en otras partes de nuestro laboratorio, donde se analizaban grandes cantidades de DNA. Una vez que entraban en cualquier laboratorio de este tipo, se les prohibía la entrada en el laboratorio limpio el resto del día. Por decirlo de manera suave, yo estaba paranoico con el DNA contaminado, y creía que tenía una buena razón para estarlo.

Aun así, en los experimentos iniciales de Matthias habíamos visto pruebas de cierta contaminación humana del hueso. Después de usar la PCR para amplificar un trozo de mtDNA del hueso, él había clonado el lote resultante de copias de DNA supuestamente idénticas en bacterias. Lo hizo para ver si podía existir más de un tipo de secuencia de mtDNA entre las moléculas clonadas; cada bacteria portará solo una molécula de 61 nucleótidos unida a una molécula portadora llamada plásmido, y crecerá hasta constituir un clon de millones de bacterias en el que cada una lleva copias de la molécula de 61 nucleótidos que portaba la primera bacteria, por lo que podíamos conseguir, secuenciando cierta cantidad de clones, una visión de conjunto de cualesquiera secuencias diferentes de DNA que existieran en la población de moléculas. En los primeros experimentos de Matthias, vimos diecisiete moléculas clonadas que eran semejantes o idénticas unas a otras, y a la vez diferentes de las de los más de dos mil mtDNA humanos modernos que estábamos usando para compararlos. Pero también vimos una que era idéntica a una secuencia vista en algunos humanos actuales. Esto mostraba con claridad la presencia de contaminación, quizá de los conservadores del museo u otros que hubieran manejado el hueso a lo largo de los 140 años desde su descubrimiento.

Así que lo primero que hizo Matthias en su intento de reproducir nuestro resultado original fue repetir la PCR y la clonación. Esta vez encontró diez clones con la secuencia única que nos había emocionado tanto, y dos que parecía que podían proceder de cualquier persona moderna. Entonces volvió al hueso e hizo otro extracto, hizo la PCR y la clonación de nuevo, y consiguió diez clones del tipo interesante y cuatro que parecían mtDNA de humanos actuales. Ahora estábamos satisfechos: nuestro resultado original había pasado las primeras pruebas, pudimos repetirlas y ver la misma inusual secuencia cada vez.

Matthias empezó entonces a «recorrer» el mtDNA, utilizando otros cebadores diseñados para amplificar fragmentos que se superponían a una parte del primer fragmento, pero que se extendían más allá a otras regiones del mtDNA (ver ilustración 1.2[*]). Una vez más, observamos que algunas de las frecuencias de estos fragmentos tenían cambios en los nucleótidos nunca vistos en humanos contemporáneos. A lo largo de los pocos meses siguientes, Matthias amplió trece fragmentos diferentes de distintos tamaños, cada uno de ellos al menos dos veces. La interpretación de las secuencias era complicada por el hecho de que cualquier molécula de DNA puede llevar mutaciones que pueden deberse a varias causas: antiguas modificaciones químicas, errores de secuenciación, o incluso variación rara pero natural que puede existir entre las moléculas de mtDNA encontradas dentro de la célula de un individuo. Por tanto, usamos una estrategia que yo había diseñado previamente para DNA de animales antiguos (de nuevo, ver ilustración 1.2[*]). Para cada posición en cada experimento, consideramos auténtico el llamado nucleótido de consenso, es decir, el nucleótido (A, T, G o C) que tienen en esa posición la mayoría de las moléculas examinadas. También requeríamos que cada posición fuera idéntica en al menos dos experimentos independientes, ya que un PCR podría, en un caso extremo, haberse iniciado desde una sola cadena de DNA, en cuyo caso todos los clones, debido a algún error en el primer ciclo de PCR o en alguna modificación química en esa cadena de DNA en particular, llevarían el mismo nucleótido en la misma posición. Si dos PCR diferían incluso con respecto a una sola posición, repetíamos la PCR una tercera vez, para ver cuál de los dos nucleótidos era reproducible. Matthias acabó utilizando 123 moléculas de DNA clonadas para componer una secuencia de 379 nucleótidos de la parte más variable del mtDNA. Según los criterios que habíamos establecido, esta era la secuencia de mtDNA que este o esta neandertal tenía cuando estaba vivo o viva.

Una vez que tuvimos esta secuencia más larga, pudimos empezar el emocionante trabajo de compararlo con las variaciones vistas en los humanos actuales.

En este punto, comparamos nuestra secuencia de mtDNA neandertal de 379 nucleótidos con las secuencias correspondientes de mtDNA de los 2051 humanos actuales de todo el mundo. De media, diferían veintiocho de las posiciones entre el neandertal y una persona contemporánea, mientras que las personas vivas de hoy tienen una media de solo siete diferencias entre uno y otro. El mtDNA neandertal tenía cuatro veces más diferencias.

Buscamos entonces cualquier indicio de que el mtDNA neandertal fuera más parecido al mtDNA encontrado en los europeos modernos. Bien podíamos esperarlo, puesto que los neandertales evolucionaron y vivieron en Europa y Asia occidental; en efecto, algunos paleontólogos creen que los neandertales están entre los ancestros de los europeos actuales. Comparamos el mtDNA neandertal con el de 510 europeos y descubrimos que tenían de media 28 diferencias. Luego lo comparamos con el mtDNA de 478 africanos y 494 asiáticos. El número medio de diferencias entre el mtDNA de estas personas también era de veintiocho. Esto quería decir que, de media, el mtDNA europeo no era más semejante al mtDNA neandertal de lo que lo eran los mtDNA de los modernos africanos o asiáticos. Pero quizá el mtDNA neandertal era semejante al mtDNA encontrado en solo algunos europeos, como sería esperable si los neandertales hubieran aportado algo de mtDNA a los europeos. Lo comprobamos y hallamos que los europeos de nuestra muestra cuyo mtDNA era más parecido al de los neandertales mostraban veintitrés diferencias; los africanos y asiáticos más cercanos a los neandertales presentaban veintidós y veintitrés, respectivamente. Resumiendo, observamos no solo que el mtDNA neandertal parecía muy distinto del mtDNA de los humanos modernos de todo el mundo, sino que además no había indicios de ninguna relación especial

entre el mtDNA neandertal y el de cualquier subgrupo de mtDNA europeo vivo en la actualidad.

Sin embargo, no basta con contar las diferencias para reconstruir la historia de la evolución de un fragmento de DNA. Las diferencias encontradas entre secuencias de DNA representan mutaciones que se dieron en el pasado. Pero algunos tipos de mutaciones son más frecuentes que otros, y algunas posiciones en las secuencias de DNA son más proclives a mutar que otras. En esas posiciones, puede haberse dado más de una mutación en la historia de una secuencia de DNA, sobre todo de los tipos que aparecen con más frecuencia. Por tanto, para apreciar la historia de este fragmento en particular de DNA, necesitábamos aplicar modelos sobre cómo creíamos que había mutado y evolucionado, sin perder de vista que ciertas posiciones podrían haber mutado más de una vez, oscureciendo así mutaciones previas. El resultado de este tipo de reconstrucción se representa en forma de árbol, en el cual una secuencia de DNA en el extremo de una rama la relaciona con una secuencia de DNA ancestral común. Estas secuencias ancestrales son representadas por los puntos en los que las ramas se unen al tronco (ver ilustración 1.3[*]). Cuando hicimos esta reconstrucción de árbol, vimos que el mtDNA de todos los humanos vivos hoy rastrea su ascendencia hasta un mtDNA de ancestro común.

Este hallazgo, que ya se conocía por el trabajo de Allan Wilson en los ochenta[1], es lo esperable del DNA, puesto que cada uno de nosotros lleva solo un tipo y no puede intercambiar partes de él con otras moléculas de mtDNA de la población. Ya que el mtDNA es transmitido solo por las madres, el linaje del mtDNA de una mujer se extinguirá si no tiene descendencia femenina, con lo cual en cada generación se borrarán algunos linajes de mtDNA. Por tanto, alguna vez debió de existir una mujer, la llamada Eva mitocondrial, que llevaba un linaje de mtDNA que resultaría ser el ancestro de todos los mtDNA humanos actuales,

solo porque todos los otros linajes desde entonces se han perdido, sencillamente por azar.

Sin embargo, de acuerdo con nuestros modelos, el mtDNA neandertal no se remontaba solo hasta esta Eva mitocondrial, sino que retrocedía aún más antes de compartir un ancestro con el mtDNA de los humanos vivos hoy en día. Este hallazgo fue muy emocionante. Probaba más allá de toda duda que habíamos recuperado un fragmento de DNA neandertal y que demostraba, al menos en lo que se refiere a su mtDNA, que los neandertales eran profundamente distintos de nosotros.

Mis colegas y yo también utilizamos los modelos para calcular cuánto tiempo hacía que el mtDNA neandertal compartió un ancestro con los mtDNA humanos actuales. El número de diferencias entre los dos tipos de mtDNA es un indicio de durante cuánto tiempo se han transmitido de generación en generación con independencia el uno del otro. Las tasas de mutación de especies muy separadas —por ejemplo, ratones y monos— diferirán, pero entre especies estrechamente relacionadas —como los humanos, los neandertales y los grandes simios— han sido lo bastante constantes como para que los científicos puedan estimar, sobre la base de las diferencias observadas, cuándo dos secuencias de DNA compartieron por última vez un ancestro. Utilizando los modelos para con qué rapidez se dan los diferentes tipos de mutación en el mtDNA, concluimos que el ancestro del mtDNA común a todos los tipos humanos actuales, la Eva mitocondrial, vivió entre hace 100 000 y 200 000 años, como Allan Wilson y su equipo descubrieron. Sin embargo, el ancestro que el mtDNA neandertal compartió con los humanos vivió hace unos 500 000 años; es decir, era tres o cuatro veces tan antiguo como la Eva mitocondrial de la que descienden todos los humanos actuales.

Era un material asombroso. Yo ya estaba plenamente convencido de que habíamos recuperado el DNA neandertal y de que

era muy diferente del DNA de los humanos modernos. Sin embargo, antes de publicar nuestros hallazgos, necesitábamos vencer el último obstáculo: necesitábamos encontrar un laboratorio independiente que pudiera repetir lo que habíamos hecho. Este laboratorio no necesitaba determinar la secuencia de mtDNA de 379 nucleótidos entera, pero sí tendría que rehacer una de las zonas que comportaban una o más de las sustituciones que separaban a los neandertales de los humanos actuales. Esto demostraría que la secuencia de DNA que habíamos determinado existía realmente en el hueso y no era alguna secuencia extraña y desconocida que flotase en nuestro laboratorio. Pero ¿a quién podíamos acudir? Era una cuestión delicada.

Aunque sin duda muchos laboratorios querrían participar en un proyecto de tan alto perfil potencial, existía el riesgo de que si escogíamos uno que no hubiera trabajado con tanta intensidad como nosotros en minimizar la contaminación y en enfrentarse a todos los demás problemas relacionados con el DNA antiguo, podría fracasar a la hora de extraer con éxito y amplificar una secuencia relevante. Si esto ocurría, se estimaría que nuestros resultados no se podían reproducir y por tanto eran impublicables. Sabía que nadie había gastado tanto tiempo y esfuerzo en este tipo de trabajo como nosotros, pero acabamos dirigiéndonos al laboratorio de Mark Stoneking, un genetista poblacional de la Penn State University. Mark había sido estudiante de grado y luego de posdoctorado con Allan Wilson en Berkeley, y le conocía de mi época pasada allí de posdoctorado a finales de los ochenta. Era una de las personas que estaban detrás del descubrimiento de la Eva mitocondrial y uno de los arquitectos de la hipótesis «fuera-de-África» de los orígenes del hombre moderno —la idea de que los humanos modernos se originaron en África hace unos 100 000 a 200 000 años, y que luego se diseminaron por el mundo y reemplazaron a todas las formas anteriores de humanos, como los neandertales en Europa, sin mezcla—. Res-

petaba su criterio e integridad y sabía que era una persona accesible. Más aún, una de sus estudiantes de grado, Anne Stone, había pasado el curso académico 1992-1993 en nuestro laboratorio. Anne, una científica de mente seria y ambiciosa, había trabajado con nosotros en la recuperación de mtDNA de algunos restos de esqueletos nativos americanos, por lo que nuestras técnicas le eran familiares. Sentí que si alguien podía repetir lo que habíamos hecho era ella.

Me puse en contacto con Mark. Como esperaba, él y Anne se emocionaron ante esta prueba, así que nos repartimos uno de los últimos trozos de hueso que Ralf nos había dado. Le dijimos a Anne y Mark qué parte del mtDNA debían intentar amplificar, para que tuvieran la mayor posibilidad de dar con una de las posiciones de la secuencia de mtDNA que llevara una mutación típica de nuestra secuencia de neandertal. Pero no les enviamos cebadores u otros reactivos, solo un trozo de hueso que se había mantenido en un tubo sellado desde su viaje desde Bonn. Esta precaución minimizaba cualquier posibilidad de que un contaminante pudiera pasar de nuestro laboratorio al suyo. Tampoco les dijimos qué posiciones eran típicas del mtDNA neandertal, no porque no confiara en ellos, sino porque quería poder decir que habíamos hecho todo lo posible para evitar incluso un sesgo involuntario. Resumiendo, Anne tendría que sintetizar los cebadores y hacerlo todo independientemente de nosotros sin saber con exactitud qué resultado esperábamos. Una vez que enviamos el hueso por la empresa FedEx, solo teníamos que esperar.

En general, este tipo de experimentos tardan más tiempo del que se espera: una empresa no entrega los cebadores en el plazo prometido, un reactivo que se prueba para la contaminación resulta contener DNA humano, un técnico se pone enfermo el día en que tiene que poner en marcha la máquina de secuenciar con la muestra esencial. Esperamos lo que nos pareció una eternidad a que Anne llamara desde Pensilvania. Y por fin una noche lla-

mó. Su tono de voz me dijo de inmediato que no estaba contenta. Había clonado quince moléculas de DNA amplificadas de la zona de interés, y todas parecían las de una persona actual —de hecho, como las de mi propio DNA, o el de Anne—. Era una derrota aplastante. ¿Qué quería decir aquello? ¿Habíamos amplificado algún DNA raro? No podía creer que se tratara de eso. Si fuera de algún animal desconocido, no estaría tan cerca del mtDNA humano como lo estaba, aunque difícilmente podía tratarse de mtDNA de algún humano inusual si era más o menos cuatro veces tan diferente de todos los mtDNA humanos que habían sido estudiados. Siempre estaba la posibilidad de que la secuencia en la que habíamos desembocado hubiera sido creada por alguna modificación química del DNA antiguo que atacara con insistencia las mismas posiciones de la secuencia; sin embargo, de una secuencia así de mtDNA modificado se esperaría que se pareciera a una secuencia humana con cambios añadidos por este proceso químico desconocido, más que a una secuencia que se hubiera descolgado del linaje humano en el pasado. E incluso entonces, ¿por qué Anne no encontraría la misma secuencia que nosotros? La única explicación plausible parecía ser que Anne tenía más contaminación en sus experimentos que nosotros, tanta que era más abundante que las raras moléculas neandertales. ¿Qué podíamos hacer? No podíamos volver a Ralf y pedirle otro trozo del valioso fósil basándonos en la posibilidad de que el siguiente experimento tuviera más éxito que el primero.

Quizá, aun cuando los experimentos de Anne tuvieran más contaminación que los nuestros, ella podía secuenciar miles de moléculas de mtDNA de su trozo de hueso y con ello encontrar algunas moléculas raras que se parecieran a las nuestras. Pero mientras tanto nosotros habíamos hecho experimentos para determinar el número de moléculas de mtDNA neandertal en los extractos óseos neandertales que habíamos utilizado para iniciar nuestras PCR. Resultó que eran unas cincuenta. En compara-

ción, una fuente de contaminación como una partícula de polvo podría contener decenas de miles, o cientos de miles de moléculas de mtDNA. Así que era muy probable que fracasara cualquier experimento de captación de este tipo.

Discutí este enigma largo y tendido, no solo con Matthias sino también en nuestras reuniones semanales de laboratorio con el subgrupo de mi laboratorio que trabajaba con el DNA antiguo. A lo largo de mi carrera he comprobado que estos amplios debates con científicos que trabajan en mi laboratorio son muy útiles; incluso creo que han sido esenciales en todos los éxitos que hayamos conseguido. En estas discusiones, a menudo surgen ideas que nunca se les ocurrirían a personas que estuvieran centradas únicamente en su propio trabajo. Más aún, los científicos sin un compromiso personal con el resultado de un proyecto proporcionan un test de realidad, puesto que están libres de la proyección del deseo demasiado común en aquellos que están trabajando en un proyecto que aman y del cual puede depender su propio futuro. A menudo mi papel en estas discusiones es moderar y seleccionar las ideas cuyo seguimiento parece prometedor.

Una vez más, nuestra reunión tuvo su fruto, y desarrollamos un plan. A Anne se le pediría que fabricara cebadores que no fueran una diana perfecta para el DNA moderno. En lugar de ello, el nucleótido final se correspondería con un nucleótido que solo se encontraba en nuestra supuesta secuencia neandertal. Estos cebadores no iniciarían (o solo de forma muy débil) la amplificación a partir del mtDNA moderno, y así favorecerían la amplificación de los mtDNA parecidos a los de neandertal. Discutimos este plan a fondo, sobre todo el punto esencial de si la tarea de Anne podía considerarse una réplica independiente de nuestro descubrimiento si usaba información de nuestra secuencia para hacer los cebadores. Estaba claro que hubiera sido estéticamente más satisfactorio que Anne hubiera podido conseguir la misma

secuencia que nosotros sin ningún conocimiento previo de la secuencia. Sin embargo, podíamos decirle que sintetizara los cebadores específicos de neandertal que distinguieran otras dos posiciones que también llevaran nucleótidos únicos. Y no le diríamos dónde estaban esas posiciones o cuántas había. Si hallaba los mismos cambios de nucleótidos que nosotros, entonces todos estaríamos convencidos de que tales moléculas eran en efecto originarias del hueso mismo. Después de mucho más debate, acabamos de acuerdo en que se trataba de un paso adelante lícito.

Transmitimos a Anne la información necesaria; encargó los nuevos cebadores; esperamos. Ya estábamos a mediados de diciembre, y Anne nos había dicho que tenía planeado volar a Carolina del Norte en Navidad para visitar a sus padres. Era evidente que no podía decirle que lo cancelara, por mucho que deseara que lo hiciera. Por fin, después de casi dos semanas, sonó el teléfono. Anne había secuenciado cinco moléculas de sus nuevos productos de PCR. Todas ellas contenían las dos sustituciones que habíamos visto en nuestra secuencia neandertal, sustituciones que son raras o están ausentes en los humanos modernos. Sentí un alivio enorme. Me pareció que todos nos merecíamos un descanso navideño. Llamamos a Ralf a Bonn para transmitirle la buena noticia. Como había hecho con frecuencia durante mis años en Múnich, celebré el año nuevo haciendo un viaje de esquí con algunos biólogos de la fauna silvestre a los aislados valles alpinos de la frontera austriaca. Esta vez, mientras esquiaba por los espectaculares valles, no pude evitar pensar en el artículo científico que describiría la primera secuencia de DNA de un neandertal. Para mí, lo que estábamos a punto de describir era incluso más espectacular que el empinado paisaje nevado que me rodeaba.

Matthias y yo volvimos a encontrarnos en el laboratorio después de las vacaciones de Navidad y nos sentamos a escribir nuestro artículo. Una cuestión de primer orden era adónde en-

viarlo. *Nature*, la revista británica, y su equivalente americana *Science*, gozan del mayor prestigio y visibilidad en la comunidad científica y el general entre los medios de comunicación, y cualquiera de ellas hubiera sido una elección obvia. Pero ambas imponen estrictos límites en cuanto a extensión a los manuscritos, y yo quería explicar todos los detalles de lo que habíamos hecho, no solo convencer al mundo de que estábamos en lo cierto, sino también promocionar nuestros laboriosos métodos para extraer y analizar el DNA antiguo. Además, estaba desengañado de ambas publicaciones por su tendencia a publicar estudios sensacionalistas sobre DNA antiguo que no albergaban los criterios científicos que nuestro grupo consideraba necesarios. A menudo parecían más interesados en publicar artículos que les concedieran cobertura en el *New York Times* y otros importantes medios de comunicación que en asegurarse de que los resultados fueran verosímiles y sostenibles.

Discutí todo esto con Tomas Lindahl, un científico de origen sueco del Imperial Cancer Research Fund Laboratory de Londres. Tomas, un experto eminente en el daño del DNA, habla bajo, pero no huye de la controversia cuando sabe que tiene razón. Ha sido una especie de mentor mío desde 1985, cuando pasé seis semanas en su laboratorio estudiando el daño químico en el DNA antiguo. Tomas sugirió que enviáramos el artículo a *Cell*, una revista muy respetada e influyente especializada en biología molecular y celular. La publicación en ella enviaría una señal a la comunidad de que la secuenciación de DNA antiguo era biología molecular sólida y no solo el producto de resultados vistosos, pero cuestionables: además, *Cell* aceptaba artículos largos. Tomas llamó a su célebre editor, Benjamin Lewin, para suscitar su interés, ya que un manuscrito de este tipo estaba un poco fuera del campo habitual de *Cell*. Lewin nos pidió que se lo mandáramos para la habitual revisión. Eran noticias muy buenas. Ahora tendríamos espacio suficiente para describir todos nues-

tros experimentos y presentar todos los argumentos sobre por qué estábamos convencidos de que teníamos genuino DNA neandertal.

Hoy, aún creo que este es uno de mis mejores artículos. Además de describir la forma cuidadosa en que habíamos reconstruido la secuencia de mtDNA y por qué la considerábamos auténtica, estableció la prueba de que nuestra secuencia de mtDNA quedaba fuera de la gama de variación que vemos hoy, y la consiguiente implicación de que los neandertales no habían aportado nada al mtDNA de los humanos modernos. Estas conclusiones eran compatibles con el modelo fuera-de-África de la evolución humana que Allan Wilson, Mark Stoneking y otros habían propuesto. Como decíamos en el artículo: «De esta manera, la secuencia de mtDNA neandertal apoya un escenario en el que los humanos modernos surgieron recientemente en África como una especie distinta y sustituyeron a los neandertales con poco o nada de cruce».

También intentamos describir todas las precauciones que se nos ocurrieron. En especial, señalamos que el mtDNA ofrece solo una visión limitada de la historia genética de la especie. Como solo se transmite de madres a hijos, refleja en exclusiva el lado femenino de la historia. Por tanto, si los neandertales se hubieran cruzado con los humanos modernos, solo lo detectaríamos si se hubieran cruzado las hembras entre los dos grupos. Esto no tiene por qué haber sido el caso. En la historia humana más reciente, cuando grupos humanos cuyo estatus social es diferente se han encontrado y han interactuado, casi siempre han practicado sexo entre ellos y han tenido descendencia. Pero esto, en general, se dio de una manera sesgada con respecto a lo que hacen machos y hembras: en otras palabras, el participante del grupo socialmente dominante era la mayoría de las veces el macho, y la descendencia de estas uniones tendía a permanecer en el grupo de la madre. Por supuesto, no sabemos si este modelo era el típico de los hu-

manos modernos cuando vinieron a Europa y se encontraron con los neandertales hace unos 35 000 años. Y ni siquiera sabemos si los humanos modernos eran socialmente dominantes en cualquier sentido que se pudiera comparar con lo que vemos entre los grupos humanos actuales. Pero está claro que observar solo el lado femenino de la herencia solo nos cuenta la mitad de la historia de lo que ocurrió.

Otra limitación aún más importante del mtDNA se deriva de la manera en que se hereda. Como se ha dicho, el mtDNA de un individuo no intercambia fragmentos y piezas con el mtDNA de otro individuo. Más aún, si una mujer tiene solo hijos, su mtDNA se extinguirá. Como el azar tiene un papel tan importante en la historia del mtDNA, incluso cuando se hubiera transmitido una parte desde los neandertales a los humanos modernos en Europa en algún momento entre hace 35 000 y hace 30 000 años, podría muy bien haber desaparecido. Esta limitación no existe para los cromosomas del núcleo de la célula; recuérdese que existen en pares en cada individuo, con un cromosoma del par procedente de la madre y el otro procedente del padre. Cuando se forman en un individuo los espermatozoides o los óvulos, los cromosomas se separan y se reúnen en una intrincada danza que da como resultado el intercambio entre ellos de algunas de sus partes. Por tanto, si podemos estudiar varias partes del genoma nuclear de un individuo, podríamos conseguir varias versiones diferentes de la historia genética de un grupo. Por ejemplo, aun si, en algunas partes, se hubieran perdido las variantes quizá aportadas por los neandertales, esto no sería el caso en todas las partes. Por tanto, observando muchas partes del genoma nuclear, se llega a una imagen de la historia humana sobre la que el azar influye mucho menos. Por esta razón, concluimos en nuestro artículo que nuestros resultados «no descartan la posibilidad de que los neandertales aportaran otros genes a los humanos mo-

dernos». Sin embargo, dadas las evidencias disponibles, nos mostramos claramente favorables a la hipótesis «fuera-de-África».

Nuestro artículo fue revisado por nuestros colegas y aceptado para ser publicado en *Cell* después de algunas revisiones menores. Como es habitual en todas las revistas de primera línea, los editores de *Cell* insistieron en que no habláramos de nuestros hallazgos antes de su publicación en el número del 11 de julio[2]. Prepararon una nota para la prensa y cogí un vuelo para la conferencia de prensa que organizaron en Londres el día de la publicación. Fue mi primera conferencia de prensa y la primera vez que me encontraba en el centro de esa intensa atención por parte de los medios de comunicación. Para mi gran sorpresa, disfruté tratando de hacer comprender la esencia de nuestro trabajo, haciendo todo lo posible por describir tanto nuestras conclusiones como las precauciones inherentes a ellas. No era tan fácil, porque nuestros datos tenían implicaciones directas en una batalla campal que había estado haciendo estragos en el campo de la antropología durante más de diez años.

Esta batalla la había iniciado la hipótesis «fuera-de-África», que Allan Wilson y sus colegas habían propuesto basándose sobre todo en los modelos de variación del mtDNA humano actual. En un principio, la idea se había enfrentado a la ridiculización y la hostilidad de la comunidad paleontológica. Casi todos los paleontólogos de la época suscribían el llamado modelo multirregional para el origen de los humanos modernos, que sostenía que los humanos modernos evolucionaron en diversos continentes, de forma más o menos independiente, a partir del *Homo erectus*. Creían que una historia profunda dividía los grupos de humanos existentes: se pensaba, por ejemplo, que los neandertales, y quizá homínidos europeos anteriores, eran los ancestros de los europeos actuales; que los ancestros de los asiáticos actuales eran otras formas arcaicas de Asia, retrocediendo hasta el «hombre de Pekín». Sin embargo, un número cada vez mayor de pa-

leontólogos respetados, con Chris Stringer, del Museo de Historia Natural de Londres, a la cabeza, consideraban ahora que el modelo «fuera-de-África» de los orígenes humanos era el que mejor encajaba tanto con el registro fósil como con los datos arqueológicos. Chris había sido invitado por *Cell* a la conferencia de prensa, donde anunció que nuestra recuperación del DNA neandertal era a la paleontología lo que el paseo lunar había sido a la exploración espacial. Por supuesto, me gustó, aunque no me sorprendió, su alabanza. Todavía me gustó más cuando desde «el otro lado» los multirregionalistas dijeron cosas positivas al menos de los aspectos técnicos de nuestro trabajo, en concreto cuando el más vociferante y belicoso de ellos, Milford Wolpoff, de la Universidad de Michigan, declaró en un comentario en *Science* que «si alguien era capaz de hacer esto, ese era Svante».

En conjunto, me aturdió la atención que recibió nuestro artículo. Fue reseñado en la primera página de muchos periódicos importantes y en los noticiarios de radio y televisión de todo el mundo. Durante la semana posterior a la aparición del artículo, pasé casi todo el tiempo hablando por teléfono con periodistas. Había trabajado en el DNA antiguo desde 1984 y me había dado cuenta poco a poco de que en principio tenía que ser posible recuperar el DNA neandertal. Y ya habían pasado nueve meses desde que Matthias me llamó y me despertó para decirme que estaba viendo cómo salía una secuencia de DNA que no era humana de una de nuestras máquinas de secuenciación. Así que había tenido tiempo para acostumbrarme a la idea y, a diferencia de la mayor parte del resto del mundo, no estaba impactado por nuestro éxito. Pero una vez que decayó el frenesí de los medios, sentí la necesidad de tener algo de perspectiva. Quería reflexionar sobre los años que nos habían llevado a este descubrimiento y pensar adónde me dirigiría a continuación.

CAPÍTULO 2

MOMIAS Y MOLÉCULAS

Todo esto no se inició con los neandertales, sino con las antiguas momias egipcias. Desde que mi madre me llevó a Egipto cuando tenía trece años, me había fascinado su historia antigua. Pero cuando empecé a seguir estos estudios, en la Universidad de Upsala de mi Suecia natal, me resultó cada vez más claro que mi fascinación por los faraones, las pirámides y las momias era el sueño romántico de un adolescente. Hice los deberes; memoricé los jeroglíficos y los hechos históricos; incluso trabajé dos veranos consecutivos catalogando trozos de cerámica y otros cachivaches en el Museo Mediterráneo de Estocolmo, que bien podría haberse convertido en mi futuro puesto de trabajo si hubiera llegado a hacerme egiptólogo en Suecia. Encontré que la misma gente hacía casi las mismas cosas el segundo verano que el primero. Más aún, iban a comer a la misma hora, al mismo restaurante, encargaban los mismos platos, debatían los mismos enigmas egiptológicos y cotilleos académicos. En esencia, acabé dándome cuenta de que la disciplina de la egiptología avanzaba demasiado despacio para mi gusto. No era el tipo de vida profesional que había imaginado para mí. Quería más emoción, y más relevancia para el mundo que me rodeaba.

Este desencanto me arrastró a una crisis vocacional. Como reacción, e inspirado por mi padre, que había sido médico y más tarde se hizo bioquímico, decidí estudiar medicina, con la idea de hacer investigación básica. Entré en la Facultad de Medicina de la Universidad de Upsala y después de pocos años me sorprendí de lo mucho que disfrutaba viendo pacientes. Parecía ser una de las pocas profesiones en las que no solo te encuentras con todo tipo de personas, sino que además puedes representar un papel positivo en su vida. Esta capacidad para comprometerme con la gente era un talento inesperado, y después de cuatro años

de estudios médicos tuve otra minicrisis: ¿tenía que hacer clínica, o cambiarme, como había pensado al principio, a la investigación? Opté por lo segundo, pensando que podría —y muy probablemente lo haría— volver al hospital después del doctorado. Me uní al laboratorio de uno de los científicos entonces más famosos de Upsala, Per Pettersson. No mucho antes, su grupo había sido el primero en clonar la secuencia genética de un tipo importante de antígenos de trasplante, moléculas de proteína que están en la superficie de las células inmunes y mediatizan su reconocimiento de proteínas virales y bacterianas. No solo Pettersson había conseguido descubrimientos biológicos emocionantes con relevancia para la práctica clínica, sino que su laboratorio era uno de los pocos de Upsala que dominaba los entonces novedosos métodos de clonación y manipulación de DNA introduciéndolo en bacterias.

Pettersson me pidió que me uniera a los esfuerzos de su grupo por estudiar una proteína codificada por un adenovirus, un virus que provoca diarrea, síntomas como de resfriado y otros momentos desagradables de nuestras vidas. Se creía que esta proteína viral se vinculaba por medio de los antígenos de trasplante al interior de la célula, de manera que, una vez transportada a la superficie de la célula, podía ser reconocida por las células del sistema inmune, que entonces se activarían y matarían otras células infectadas del cuerpo. A lo largo de los siguientes tres años, todos los que trabajábamos con esta proteína acabamos viendo que esta idea de lo que hacía la proteína era completamente falsa. Descubrimos que más que convertirse en una triste diana del sistema inmune, la proteína viral busca los antígenos de trasplante dentro de la célula, se enlaza a ellos y bloquea su transporte a la superficie de la célula. Como la célula infectada de esta manera acaba no teniendo antígenos de trasplante en su superficie, el sistema inmune no puede reconocer que está infectado. Esta proteína camufla el adenovirus, por así decirlo. De hecho, lleva a la

creación de una célula dentro de la cual el adenovirus probablemente puede sobrevivir durante mucho tiempo, quizá incluso tanto como vive la persona infectada. Era una revelación que de esta manera los virus podían frustrar el sistema inmune de sus huéspedes, y nuestro trabajo acabó fructificando en varios artículos de alto perfil en las mejores revistas. De hecho, sucede que otros virus también usan mecanismos similares para eludir el sistema inmune.

Este fue mi primer caso de ciencia de vanguardia, y fue fascinante. También fue la primera vez (pero no la última) en que vi que el progreso científico a menudo incluye el penoso proceso de asumir que tus ideas y las de tus colegas están equivocadas, y una lucha aún más larga para convencer a tus socios más próximos y luego al mundo en general de que tomen en consideración una nueva idea.

Pero de alguna manera, en medio de toda la pasión por la biología, no podía sacudirme de encima la fascinación romántica por el Egipto antiguo. En todos los casos en que tenía tiempo, asistía a conferencias en el Instituto de Egiptología, y seguía tomando clases de copto, la lengua del Egipto faraónico que se hablaba durante la era cristiana. Me hice amigo de Rostislav Holthoer, un jovial egiptólogo finés con una inmensa capacidad para hacer amistades por encima de fronteras sociales, políticas y culturales. Durante largas cenas y veladas en casa de Rosti en Upsala a finales de los setenta y principios de los ochenta, a menudo me quejaba de que me encantaba la egiptología, aunque veía poco futuro en ella, pero de que también me encantaba la biología molecular, con su promesa en apariencia sin límites de avanzar hacia el bienestar de la humanidad. Me sentía desgarrado entre dos caminos profesionales seductores por igual, un dilema no menos doloroso porque sin duda se veía sin mucha simpatía como la impaciencia de un joven que solo se enfrentaba a buenas opciones.

Pero Rosti tenía paciencia conmigo. Me escuchó cuando le expliqué cómo los científicos podían ahora extraer DNA de cualquier organismo (ya fuera un hongo, un virus, una planta, un animal o un humano), unirlo a un plásmido (una molécula portadora hecha de DNA de un virus bacteriano) e introducir el plásmido en bacterias, donde se replicaría a la vez que su huésped, haciendo cientos o miles de copias del DNA extraño. Expliqué cómo podíamos entonces determinar la secuencia de los cuatro nucleótidos del DNA extraño y hallar diferencias en las secuencias entre los DNA de dos individuos o de dos especies. Cuanto más similares fueran las dos secuencias —es decir, menor era el número de diferencias entre ellas—, más estrechamente relacionadas estaban. De hecho, del número de mutaciones compartidas podíamos inferir no solo cómo habían evolucionado las secuencias en particular a partir de secuencias del DNA ancestral común a lo largo de miles y millones de años, sino también cuándo habían existido esas secuencias de DNA ancestral aproximadamente. Por ejemplo, en un estudio de 1981, el biólogo molecular británico Alec Jeffreys analizó la secuencia de DNA de un gen que codifica una proteína en el pigmento rojo de la sangre tanto de humanos como de simios, y dedujo cuándo empezaron a evolucionar los genes de forma independiente en humanos y simios. Esto, expliqué, podría hacerse pronto con muchos genes, con muchos individuos de cualquier especie. De esta manera, los científicos podrían determinar cómo estaban relacionadas en el pasado especies diferentes, así como cuándo se iniciaron sus historias separadas, con mucha más exactitud de la que era posible a partir del estudio de la morfología o de los fósiles.

A medida que le explicaba esto a Rosti me iba surgiendo en la cabeza una pregunta. ¿Estaría restringido necesariamente este tipo de investigación al DNA de muestras de sangre o de tejidos de humanos y animales vivos en la actualidad? ¿Y las momias

egipcias? ¿Podrían haber sobrevivido las moléculas de DNA en ellas —y podrían, también ser unidas a plásmidos y hacer que se replicaran en bacterias?—. ¿Sería posible estudiar secuencias de DNA antiguas y a partir de ahí clarificar cómo estaban relacionados entre sí y con las personas actuales los antiguos egipcios? Si se podía hacer esto, entonces podríamos responder a preguntas que nadie podía contestar con los medios convencionales de la egiptología. Por ejemplo, ¿cuánta relación hay entre los egipcios actuales y los egipcios que vivieron cuando mandaban los faraones, hace unos 2000 a 5000 años? ¿Los grandes cambios políticos y culturales, como la conquista de Alejandro Magno en el siglo IV a. C., o la de los árabes en el siglo VII d. C., tuvieron como resultado una sustitución de una gran parte de la población egipcia? O, por el contrario, ¿fueron estos acontecimientos solo políticos y militares los que causaron que la población nativa adoptara nuevas lenguas, nuevas religiones y nuevas formas de vida? En esencia, ¿los pueblos que vivían en Egipto en la actualidad eran los mismos que los que construyeron las pirámides, o sus ancestros se habían mezclado tanto con los invasores que los egipcios modernos eran ahora diferentes por completo de la población antigua de su país? Estas preguntas imponían. Sin duda ya se le habían ocurrido a alguien más.

Fui a la biblioteca de la Universidad y busqué en periódicos y revistas, pero no encontré ningún informe sobre el aislamiento de DNA en materiales antiguos. No parecía que nadie hubiera intentado aislar DNA antiguo. O, si lo habían intentado, no lo habían conseguido, porque si lo hubieran conseguido ya habrían publicado sus hallazgos. Hablé con los estudiantes de grado y de posdoctorado con más experiencia del laboratorio de Pettersson. Dado lo sensible que es el DNA, argumentaron, ¿por qué cabría esperar que durara miles de años? Las conversaciones eran desalentadoras, pero no abandoné la esperanza. En mis incursiones en la literatura, había encontrado artículos cuyos autores preten-

dían haber detectado proteínas en restos de animales de museos con cientos de años de antigüedad, proteínas que aún se podían detectar por medio de anticuerpos. También encontré estudios que pretendían haber detectado, bajo el microscopio, los perfiles de células en momias egipcias antiguas. Así que algo parecía sobrevivir, al menos algunas veces. Decidí hacer algunos experimentos.

La primera pregunta parecía ser si el DNA podía sobrevivir durante mucho tiempo en tejidos después de la muerte. Especulé con que si el tejido se desecaba, como era el caso en que una momia era preparada por los embalsamadores en el Egipto antiguo, entonces el DNA bien podría sobrevivir durante un largo periodo de tiempo, puesto que las enzimas que degradan el DNA necesitan agua para ser activas. Esta sería la primera cosa que había que probar. Así que en el verano de 1981, cuando no había demasiada gente en el laboratorio, fui al supermercado y compré un trozo de hígado de ternera. Pegué el recibo de la tienda en la primera página de un nuevo cuaderno de laboratorio que utilizaría para registrar estos experimentos. Etiqueté el cuaderno con mi nombre y nada más, ya que había decidido mantener mis experimentos tan en secreto como fuera posible. Pettersson podría prohibirme llevarlos a cabo, si le llamaban la atención como una distracción innecesaria del estudio intensamente competitivo del funcionamiento de las moléculas en el sistema inmune que se suponía que yo estaba llevando a cabo. Y, en cualquier caso, quería mantener todo esto bajo cuerda para evitarme el ridículo ante mis compañeros de laboratorio en la eventualidad probable de un fracaso.

Para imitar de alguna manera la momificación en el antiguo Egipto, decidí momificar de forma artificial el hígado de ternera aislándolo en un horno del laboratorio calentado a 50° C. El primer efecto de esto fue que se puso en entredicho el secreto de mi proyecto. El segundo día, su olor repugnante provocó conside-

rables comentarios, y tuve que revelar mi proyecto antes de que alguien encontrara el hígado y lo tirara. Afortunadamente, el olor disminuyó a medida que la desecación progresaba, y a mi profesor no le llegó ni el olor ni una palabra de lo que se estaba pudriendo en el laboratorio.

Tras unos pocos días, el hígado se había vuelto duro, marrón negruzco y seco, justo igual que una momia egipcia. Procedí a extraer DNA de él, con éxito inmediato. El DNA estaba en fragmentos pequeños de unos pocos cientos de pares de nucleótidos en lugar de los muchos miles de pares de nucleótidos típicos del DNA sacado de tejido fresco, pero todavía había enormes cantidades. Me sentí reivindicado. No era del todo ridículo pensar que el DNA podía sobrevivir en un tejido muerto, al menos durante algunos días o semanas. Pero ¿y durante miles de años? El siguiente paso obvio era intentar conseguir la misma proeza con una momia egipcia. Ahora mi amistad con Rosti me venía al pelo.

A Rosti le había hecho partícipe de mis inquietudes sobre la egiptología y la biología molecular, y se alegró de respaldar mi intento de llevar la egiptología a la era molecular. El pequeño museo de la universidad del que era conservador tenía algunas momias, y aceptó mi petición de extraerles muestras. Por supuesto, no estaba dispuesto a dejarme abrirlas y sacarles los hígados. Pero si una momia ya había sido desenvuelta y sus miembros se habían roto, Rosti me permitía sacar pequeños fragmentos de piel o tejido muscular de la zona en la que la momia ya se había roto para intentar mi extracción de DNA. Había tres momias en este estado. Tan pronto como puse el escalpelo en lo que una vez fueron la piel y los músculos de una persona que existió hace unos 3000 años, me di cuenta de que la textura del tejido era diferente de la del hígado de ternera que yo había asado en el horno. El rebanado del hígado había sido un poco duro y resistente, mientras que las momias eran frágiles y sus tejidos tendían

a desmenuzarse en polvo marrón cuando se cortaban. Imperturbable, las sometí al mismo procedimiento de extracción que había llevado a cabo sobre el hígado. Los extractos de momia diferían del extracto de hígado en que eran tan marrones como la momia misma, mientras que el extracto de hígado había sido tan claro como el agua. Y cuando busqué DNA en los extractos de la momia dejándolos migrar en un gel en un campo eléctrico y tiñéndolos con un tinte que los hiciera rosa fluorescente a la luz ultravioleta si hubiera enlaces de DNA, no vi nada más que la materia marrón, que desde luego se volvía fluorescente a la luz ultravioleta, pero azul en lugar de rosa, no lo que se esperaba si fuera DNA. Repetí este procedimiento con las otras dos momias. De nuevo, no hubo DNA; solo una sustancia marrón oscuro indeterminada que acababa en los extractos que esperaba que hubieran contenido DNA. Mis colegas de laboratorio parecían tener razón: ¿cómo podían sobrevivir durante miles de años las frágiles moléculas de DNA, cuando incluso dentro de una célula necesitaba reparaciones constantes para no descomponerse?

Escondí mi cuaderno de laboratorio secreto en el fondo del cajón de mi mesa y volví al virus que engañaba al sistema inmune con su inteligente proteína, pero no pude quitarme las momias de la cabeza. ¿Cómo podía ser que otros hubieran visto lo que parecían restos de células en algunas momias? Quizá aquella sustancia marrón era de hecho DNA, modificado químicamente de alguna manera para parecer marrón y brillar con luz fluorescente azul a los rayos UV. Quizá era ingenuo esperar que sobreviviera DNA en todas las momias. Quizá se necesitaba analizar muchas momias para encontrar las escasas buenas. La única manera de descubrirlo era convencer a los conservadores de los museos que sacrificaran trozos de muchas momias en la esperanza quizá vana de que una de ellas tuviera DNA antiguo, y no tenía mucha idea sobre cómo conseguir su permiso. Parecía que necesitaba una manera rápida y mínimamente destructiva de analizar

muchas momias. Mi educación médica me dio una pista. Los trozos muy pequeños de tejido, como los que se extraen con una aguja de biopsia de un tumor sospechoso, por ejemplo, podían fijarse y teñirse y luego estudiarse al microscopio. El nivel de detalle discernible era en general exquisito, y permitía que un patólogo entrenado distinguiera las células normales del recubrimiento del intestino o en una próstata o glándula mamaria, por una parte, de las células que habían empezado a cambiar de tal forma que sugerían que eran tumores tempranos, por la otra. Más aún, había tintes específicos de DNA que podían aplicarse a portaobjetos de microscopio para mostrar dónde había DNA. Lo que necesitaba hacer era recoger pequeñas muestras de un gran número de momias y analizarlas por medio del microscopio y el teñido del DNA. El mayor número de momias, como es natural, había de encontrarse en los mayores museos. Pero era de esperar que los conservadores se resistieran a permitir a un estudiante sueco muy entusiasta que extrajera piezas incluso diminutas para lo que parecía un proyecto un tanto utópico.

De nuevo, Rosti se mostró amable; indicó que había un gran museo que tenía colecciones enormes de momias y podría estar dispuesto a cooperar. Estaba entre los Staatliche Museen zu Berlin [Museos Estatales de Berlín], un complejo de museos en Berlín oriental, la capital de la República Democrática Alemana. Rosti había pasado allí muchas semanas trabajando en su colección de cerámica egipcia antigua. Que Rosti viniera a Alemania oriental como profesor desde Suecia, que en aquella época se consideraba un país que intentaba encontrar una «tercera vía» entre el capitalismo y el socialismo, es probable que le ayudara a conseguir el permiso para trabajar en el museo. Pero fue su capacidad para trabar cálidas amistades transfronterizas lo que le permitió entonces hacerse amigo íntimo de varios conservadores del museo. Y así, en el verano de 1983, me encontré en un tren que

embarcaba en un transbordador en el sur de Suecia para llegar a la mañana siguiente a la Alemania oriental comunista.

Pasé dos semanas en Berlín. Cada mañana tenía que pasar varios controles de seguridad para entrar en las instalaciones de almacenamiento del Museo Bode, situado en una isla en el río Spree, cerca del corazón de Berlín. Casi cuarenta años después de la guerra, el museo aún estaba muy marcado por ella. En varias de sus fachadas se podían ver agujeros de bala alrededor de las ventanas que habían sido diana de las ametralladoras cuando Berlín cayó en manos del ejército soviético. El primer día, cuando me llevaron a ver la exposición egiptológica de preguerra, me dieron un casco como los usados por los trabajadores de la construcción. Pronto entendí por qué. La sala de la exposición tenía enormes agujeros en el tejado a causa del fuego de artillería y los bombardeos. Los pájaros entraban y salían volando, y algunos tenían sus nidos en los sarcófagos de los faraones. Todo lo que no era de material duradero había sido sensatamente almacenado en otro lugar.

A lo largo de los días siguientes, el conservador a cargo de las antigüedades egipcias me enseñó todas sus momias. Durante unas pocas horas antes de comer en su polvorienta y destartalada oficina saqué pequeños retazos de tejido de momias que estaban desenvueltas y rotas. La comida era una tarea larga que requería salir por todos los controles de seguridad para llegar a un restaurante cruzando el río, donde comíamos comida grasienta que necesitaba lubricación con copiosas cantidades de cerveza y aguardiente. De vuelta a las colecciones, pasábamos la tarde con más aguardiente, lamentando el hecho de que los únicos viajes al extranjero que al conservador le habían autorizado habían sido visitas a Leningrado. Pronto quedó claro que mi huésped soñaba con visitar el Occidente capitalista y que si veía la ocasión quizá desertaría. Para proporcionarle alguna perspectiva sobre la vida laboral en Occidente sugerí, tan diplomáticamente como pude,

que si en Occidente bebías en el trabajo era probable que te despidieran, un concepto desconocido en el socialismo. Estos pensamientos decepcionantes no parecieron disuadirle del atractivo de las oportunidades que mi huésped imaginaba que abundaban en el capitalismo. A pesar de las horas transcurridas en estas discusiones teóricas, me las arreglé para recoger más de treinta muestras de momias para llevármelas de vuelta a Suecia.

En Upsala, preparé las muestras para el microscopio empapándolas en una solución salina para rehidratarlas, montándolas después en portaobjetos de vidrio y tiñéndolas con tintes que permitieran la visualización de células. Entonces busqué células conservadas en los tejidos. Hice este trabajo los fines de semana y a altas horas de la noche, para evitar que todo el mundo se enterara de lo que estaba haciendo. Al escudriñar con el microscopio, me deprimió el aspecto de los tejidos antiguos. En las partes musculares, apenas podía distinguir las fibras, y no digamos rastros de núcleos de células en los que se pudiera conservar DNA. Era casi desesperante, hasta que una noche observé parte de un cartílago de una oreja momificada. En el cartílago, como en el hueso, las células viven en pequeños orificios, o lagunas, dentro del tejido compacto, duro. Cuando miré el cartílago, vi lo que parecían ser restos de células dentro de las lagunas. Emocionado, teñí esa parte buscando el DNA. Me temblaban las manos cuando puse el portaobjetos bajo el microscopio. Desde luego había tinte dentro de los restos celulares del cartílago (ver ilustración 2.1[*]). ¡Parecía que había DNA conservado dentro!

Con energía renovada, continué procesando todas las muestras restantes de Berlín. Algunas parecían prometedoras. En particular, la piel de la pierna izquierda de la momia de una niña mostraba lo que eran claramente núcleos de células. Cuando teñí parte de esa piel buscando DNA, se iluminaron los núcleos de las células. Como este DNA estaba en los núcleos de las células, donde se almacena el DNA celular, no podía ser de bacterias u

hongos porque ese DNA aparecería de forma aleatoria en el tejido en el que las bacterias u hongos estaban creciendo. Fue una prueba incontestable de que se había conservado DNA de la niña misma. Tomé muchas fotos por el microscopio.

Encontré tres momias que mostraban la presencia de DNA con tinte de los núcleos celulares. Parecía que la niña tenía el mayor número de células bien conservadas. Pero entonces me empezó a corroer la duda. ¿Cómo podía estar seguro de que la momia era antigua de verdad? A veces se falsificaban cadáveres modernos para que parecieran momias antiguas, para que los autores del engaño se ganaran unos dólares de los turistas y coleccionistas. Algunas de estas momias podían donarse más tarde a los museos. El personal del Museo de Berlín había sido incapaz de proporcionarme los registros de la procedencia de esta momia en particular, quizá porque las partes más importantes del catálogo se habían destruido durante la guerra. La cuestión de su edad podía resolverse por la datación por carbono. Por fortuna, Göran Possnert, un experto en datación por carbono, trabajaba en la Universidad de Upsala. Utilizaba un acelerador para determinar la edad de muestras diminutas de restos antiguos midiendo las ratios de isótopos de carbono presentes. Le pregunté cuánto costaría fechar mi momia, preocupado de no poder permitírmelo con mi magra paga de estudiante. Se apiadó de mí y me ofreció fecharla gratis, sin siquiera mencionar el precio, sin duda porque habría estado muy fuera de mi alcance. Le entregué un trocito de la momia a Göran y esperé los resultados. Para mí, esto era un ejemplo de las situaciones más frustrantes en la ciencia, cuando tu trabajo depende sobre todo del trabajo de otra persona y no puedes hacer nada para acelerarlo, más que esperar una llamada telefónica que parece no llegar nunca. Pero por fin, unas semanas más tarde, me llegó la llamada que había estado esperando. Las noticias eran buenas. La momia tenía 2400 años; databa de aproximadamente el tiempo de la conquista de Egipto por Alejandro.

Exhalé un suspiro de alivio. Primero salí y compré una caja grande de bombones, que entregué a Göran. Luego empecé a pensar en publicar mis hallazgos.

Durante mi estancia en Alemania oriental, había desarrollado cierta comprensión de la sensibilidad de las personas que vivían bajo el socialismo. En particular, sabía que el conservador del museo y otros funcionarios que acogieron mi visita se habrían sentido muy decepcionados con una simple expresión de agradecimiento superficial al final de mi artículo. Quería hacer lo correcto, así que después de hablar con Rosti y consultar con Stephan Grunert, un egiptólogo joven y ambicioso de Alemania oriental del que me había hecho amigo en Berlín, decidí publicar mi primer artículo sobre DNA de momia en una revista científica de Alemania oriental. Peleándome con mi alemán de instituto, escribí mis hallazgos, incluyendo fotografías de la momia misma y del tejido teñido para buscar DNA. Mientras tanto, también había extraído DNA de la momia. Esta vez, los extractos contenían DNA que podía exhibir en un gel, e incluí una imagen de este experimento en el artículo. La mayor parte del DNA estaba degradado, pero una pequeña porción tenía una longitud de varios miles de nucleótidos, semejante al DNA que se podía extraer de muestras de sangre fresca. Esto, escribí, parecía indicar que algunas moléculas de DNA de tejidos antiguos podían ser lo bastante grandes como para permitir el estudio de genes individuales. Especulé sobre lo que sería posible hacer si pudiera estudiarse de manera sistemática el DNA de las momias egipcias antiguas. El artículo acababa con una nota esperanzadora: «El trabajo en los próximos años mostrará si estas expectativas se pueden cumplir». Envié el manuscrito a Stephan a Berlín. Él corrigió mi alemán, y en 1984 el artículo apareció en *Das Altertum*, una revista publicada por la Academia de Ciencias de Alemania oriental[1]. Y no pasó nada. Ni una sola persona me escri-

bió al respecto, y mucho menos me pidió una reimpresión. Yo estaba emocionado, pero nadie más parecía estarlo.

Tras darme cuenta de que el mundo en general no tenía por costumbre leer publicaciones de Alemania oriental, había descrito resultados semejantes a partir de un fragmento de la cabeza momificada de un hombre y, en octubre del mismo año, los había enviado a una revista occidental que me pareció adecuada, el *Journal of Archaeological Science*. Pero aquí la frustración residió en la increíble lentitud de la revista, incluso comparada con el retraso que mi manuscrito había sufrido en Alemania oriental, donde precisó de una revisión lingüística de Stephan, y es probable que de un escrutinio de los censores políticos. Esto era, me pareció, un reflejo de la lentitud pasmosa con la que avanzaban las cosas antiguas. El *Journal of Archaeological Science* acabó publicando mi artículo a finales de 1985[2], momento en el que los resultados que describía ya habían sido ampliamente superados por los acontecimientos.

El siguiente paso, ahora que tenía un poco de DNA de momia, era evidente. Necesitaba clonarlo en bacterias. Así que lo traté con enzimas que hacen que los extremos del DNA se puedan unir a otros trozos de DNA, lo mezclé con plásmido bacteriano y añadí una enzima que une los fragmentos de DNA. Si tenía éxito, esto crearía moléculas híbridas en las que los trozos de DNA de la momia estarían unidos al DNA del plásmido. Cuando estos plásmidos fueran introducidos en las bacterias, no solo permitirían que las moléculas híbridas replicaran en grandes cantidades de copias en células bacterianas, sino que también harían a las bacterias resistentes a un antibiótico que añadiría a mi medio de cultivo, para que las bacterias solo sobrevivieran si contenían un plásmido que funcionara. Cuando se las sembrara en placas de crecimiento que contuvieran el antibiótico, aparecerían colonias de bacterias si el experimento tenía éxito. Cada una de estas colonias procedería de una sola bacteria que ahora porta-

ría una pieza en particular de DNA de momia. Para comprobar mi experimento, hice controles, algo esencial en cualquier experimento de laboratorio. Por ejemplo, repetí el procedimiento exacto en paralelo pero sin añadir DNA de momia al plásmido, y también repetí el procedimiento pero añadiendo DNA humano moderno. Después de hacer que las bacterias absorbieran las soluciones de DNA de estos experimentos, las coloqué en platos con placas de agar que contenían el antibiótico y las puse en una incubadora a 37 °C una noche. A la mañana siguiente abrí la incubadora y, ya de entrada, inhalé la bocanada de aire húmedo que olía a medios de cultivo ricos. El plato de DNA moderno había producido miles de colonias, tantas que estaba casi por entero cubierto de bacterias. Esto demostraba que mi plásmido había funcionado: las bacterias sobrevivían porque habían absorbido el plásmido. El plato donde no se había añadido DNA al plásmido apenas había producido colonias, lo cual indicaba que no tenía DNA de alguna fuente desconocida en mi experimento. El experimento en sí, donde había añadido el DNA de la momia de Berlín, había producido varios centenares de colonias. Estaba enfervorizado. Al parecer, había replicado DNA de 2400 años. Pero ¿podría proceder de bacterias de tejido de la niña, y no de la niña misma? ¿Cómo podía demostrar que al menos una parte del DNA que había clonado en las bacterias era humano?

Necesitaba determinar la secuencia de DNA de una parte del DNA para mostrar que era humano y no bacteriano. Pero si solo secuenciaba clones al azar, es probable que contuvieran secuencias de DNA que podrían proceder o bien del genoma humano —que en 1984 aún no se había descodificado, excepto algunas partes diminutas que se habían secuenciado con gran esfuerzo— o bien de algún microorganismo cuyas secuencias de DNA fuera aún más improbable que se conocieran. Así que en lugar de secuenciar clones al azar, necesitaba identificar algún clon de interés. La respuesta estaba en una técnica por la cual se pudieran

identificar clones que llevaran DNA con una secuencia semejante a la de algo que uno quisiera encontrar. Esta técnica implicaba transferir algunas de las bacterias de cada uno de los centenares de colonias a filtros de celulosa, donde las bacterias se rompieran y su DNA se enlazara al filtro. Utilicé por tanto una pieza de DNA marcado radiactivamente, una «sonda» de cadena simple y luego hibridada a secuencias complementarias del DNA de cadena simple de los filtros. Escogí utilizar una pieza de DNA que contenía un elemento de DNA repetido, el llamado elemento *Alu*, con unos 300 nucleótidos, que se da casi un millón de veces en el genoma humano, pero en ningún organismo aparte de los humanos, simios y monos. De hecho, estos elementos *Alu* son tan abundantes que más del 10 por ciento del genoma humano está hecho de ellas. Si pudiera encontrar un elemento *Alu* entre mis clones, mostraría que al menos algo del DNA que había extraído de la momia procedía de un ser humano.

Conseguí un fragmento de un gen que había estudiado en el laboratorio que contenía un elemento *Alu*, le incorporé radiactividad y lo hibridé con mis filtros. Varios de los clones absorbieron la radiactividad, como cabía esperar si parte del DNA era humano. Recogí el clon más hibridado. Contenía un fragmento de DNA que se componía de 3400 nucleótidos. Con la ayuda de Dan Larhammar, un estudiante de grado que era el que dominaba la secuenciación de DNA en nuestro grupo, secuencié una parte del clon. Contenía un elemento *Alu*. Me puse muy contento. Había DNA humano entre mis clones, y podía ser clonado en bacterias.

Mientras me peleaba con mis geles de secuenciación en noviembre de 1984, apareció un artículo en *Nature* que fue muy relevante para mí. Russell Higuchi, que trabajaba en la UC de Berkeley con Allan Wilson, el principal arquitecto de la teoría fuera-de-África de los orígenes humanos modernos y uno de los más famosos biólogos evolutivos de la época, había extraído y

clonado DNA de la piel de 100 años de antigüedad de un quagga, una subespecie extinta de cebra que había existido en África meridional hasta hace cien años. Russell Higuchi había aislado dos fragmentos de DNA mitocondrial y demostrado que el quagga estaba, como se esperaba, más estrechamente relacionado con las cebras que con los caballos. Este trabajo me inspiró mucho. Si Allan Wilson estaba estudiando DNA antiguo, y si *Nature* consideraba lo bastante interesante como para publicarlo un artículo sobre DNA de hacía unos 120 años, sin duda lo que yo estaba haciendo ni era una locura ni carecía de interés.

Por primera vez, me senté a escribir un artículo propio que pensaba que le interesaría a mucha gente en el mundo. Inspirado en el ejemplo de Allan Wilson, lo escribí para *Nature*. Describí lo que había hecho con la momia de Berlín. Una de mis primeras referencias era el artículo que había aparecido en la revista de Alemania oriental. Sin embargo, antes de enviar el manuscrito a Londres, donde *Nature* tenía sus oficinas, tenía que hacer una cosa. Tenía que hablar con mi director de tesis, Per Pettersson, y mostrarle el manuscrito, ahora listo para enviarse. Con algún azoramiento, entré en su despacho y le conté lo que había hecho. Le pregunté si querría quizá ser coautor del artículo, en su calidad de director de mi tesis. Evidentemente, había subestimado al hombre. En lugar de reñirme por lo que podría haberse considerado una apropiación indebida de fondos de investigación y de valioso tiempo, pareció divertirle. Prometió leer mi manuscrito y dijo que no, que como era obvio no sería el coautor de un trabajo del que ni siquiera había tenido noticia.

Unas semanas más tarde, recibí una carta de *Nature*, con la promesa del editor de publicar el manuscrito si podía contestar a algunos comentarios menores de los revisores. Poco después, llegaron las pruebas. En ese punto, pensé en cómo abordar a Allan Wilson, para mí un semidiós, para preguntarle si podría trabajar con él en Berkeley tras la defensa de mi tesis de doctorado. Co-

mo no sabía cómo iniciar el tema, le envié una copia de las pruebas de imprenta sin ningún comentario más, pensando que podría gustarle ver el artículo antes de que apareciera. Pensé que más tarde le escribiría sobre posibilidades de trabajo en su laboratorio. *Nature* avanzó con rapidez hacia la publicación e incluso pidió una ilustración de cubierta de una momia con secuencias de DNA artísticamente dispuestas a su alrededor. Aún más deprisa recibí una respuesta de Allan Wilson, que se dirigía a mí como «Profesor Pääbo» —esto fue antes tanto de Internet como de Google, así que no había ningún medio evidente de que él supiera quién era yo—. El resto de su carta era aún más asombroso. ¡Me preguntaba si podía pasar su inminente año sabático en «mi» laboratorio! Fue un malentendido hilarante, fruto de mi inseguridad sobre qué escribirle. Bromeé con mis compañeros de laboratorio con que tendría a Allan Wilson, quizá el más famoso evolucionista de la época, lavando platos de gel para mí durante un año. Luego me senté a contestarle, explicándole que no era un profesor, ni siquiera un doctor, y que desde luego no tenía un laboratorio donde pudiera pasar su año sabático. Más bien me preguntaba si podría haber alguna posibilidad de que yo pasara mi posdoctorado en su laboratorio de Berkeley.

CAPÍTULO 3

LA AMPLIFICACIÓN DEL PASADO

Allan Wilson me escribió una amable respuesta invitándome a trabajar en su grupo como becario posdoctoral. Esto resultó ser un punto de inflexión en mi carrera. Una vez que obtuve el doctorado, tenía tres opciones: acabar mis estudios de medicina en el hospital (una perspectiva aburrida después de las emociones que acababa de experimentar); continuar con mi fructífero trabajo de doctorado sobre virus y defensa inmune en algún laboratorio de fama mundial; o aceptar el ofrecimiento de Allan de pasar mi posdoctorado tratando de recuperar antiguos genes. La mayoría de mis colegas y profesores con los que discutí las opciones me sugirieron la segunda alternativa, arguyendo que mi interés por el DNA de las momias era una afición pintoresca, pero en último término una distracción del trabajo serio sobre el que se podía cimentar un sólido futuro en la investigación. Por supuesto, a mí me tentaba la tercera opción, pero aún me sentía inseguro, preguntándome si la investigación como corriente principal en virología, con la «arqueología molecular» como afición, no era el recorrido más realista. Lo que lo cambió todo fue el simposio de Cold Spring Harbor de 1986.

El laboratorio de Cold Spring Harbor, en Long Island, Nueva York, es la meca de la genética molecular. El laboratorio organiza muchos encuentros muy respetables, como un simposio anual sobre biología cuantitativa. Gracias a mi artículo de *Nature*[1], me invitaron al simposio de 1986, donde presenté, por primera vez, una exposición oral sobre mi trabajo con momias. Por si esto no fuera ya bastante emocionante, entre el público había mucha gente a la que solo conocía por sus obras, entre ellos, el propio Allan Wilson y Kary Mullis, quien en la misma sesión describió la reacción en cadena de la polimerasa. La PCR era un verdadero gran avance técnico, ya que acabó con la mayor parte de la incó-

moda clonación de DNA en bacterias, y para mí fue evidente enseguida que podía usarse para estudiar el DNA antiguo. El principio, la PCR me permitiría aislar y multiplicar segmentos de interés aun cuando solo algunos sobrevivieran. De hecho, refiriéndose a mi presentación, Kary acabó su charla observando que la PCR resultaría muy adecuada para estudiar momias. Apenas podía esperar para volver al laboratorio e intentarlo.

La reunión también fue apasionante en otro sentido: fue la primera vez que estaba en la agenda un esfuerzo de coordinación y financiación pública para secuenciar el genoma humano completo. Aunque la reunión me hizo sentirme como el novicio que era, estaba eufórico por estar presente mientras los mayores discutían de los millones de dólares, las miles de máquinas y las nuevas tecnologías necesarias para esta tarea. En los animados debates, algunos científicos muy conocidos denunciaron el proyecto propuesto como técnicamente imposible, improbable que consiguiera resultados interesantes, y probable que desviara fondos valiosos de la investigación más provechosa de pequeños grupos dirigidos por investigadores individuales. Para mí, todo ello era muy emocionante; quería formar parte de la aventura del genoma.

A diferencia de los científicos henchidos de testosterona y gran poder que dominaban el encuentro, Allan Wilson era discreto y de voz baja, la personificación de lo que yo imaginaba que debía de ser un profesor de Berkeley. Neozelandés de cabello largo y mirada cálida, me hizo sentir cómodo y me animó a seguir mis inclinaciones y hacer lo que me pareciera más prometedor. El encuentro con él me ayudó a vencer mi indecisión y le dije que quería ir a Berkeley.

Pero había un obstáculo. Al no poder venir a «mi» laboratorio para su año sabático, Allan había decidido pasar el año en dos laboratorios de Inglaterra y Escocia, lo cual suponía que tenía que encontrar algo que hacer mientras tanto. Como parte de mi pro-

yecto de doctorado, había trabajado unas semanas en el laboratorio de Zúrich de Walter Schaffner, un famoso biólogo molecular que había descubierto «potenciadores», elementos esenciales de DNA que ayudaban a impulsar la expresión de los genes. Walter, siempre repleto de un entusiasmo avasallador por las ideas y proyectos heterodoxos, me invitaba ahora a pasar el año en su laboratorio trabajando sobre el DNA antiguo. Estaba interesado sobre todo en el tilacino, una especie de lobo marsupial de Australia. ¿No podía clonar el DNA de especímenes de museo de esta criatura? Acepté y me trasladé a Zúrich en cuanto defendí mi tesis doctoral en Upsala.

Mientras tanto, había esperado que la atención generada por mi artículo en *Nature* me hubiera permitido obtener más muestras de momias de Alemania oriental, para poder generar más clones y encontrar interesantes genes en lugar de las rutinarias repeticiones de *Alu*. Así que cuando Rosti fue a Berlín, unos meses después de la publicación de *Nature*, para conseguirme más muestras de momias, esperaba vía libre. Pero volvió con noticias perturbadoras. Ninguno de sus amigos del museo había tenido tiempo para verlo; de hecho, parecía que todos le habían querido evitar. Había acabado por arrinconar a uno de ellos cuando el tipo salía del museo. Parece que tras la publicación de mi artículo en *Nature*, la Stasi, la temida policía secreta de Alemania oriental, había aparecido en el museo e interrogado uno a uno a cada miembro del personal en una pequeña habitación, preguntándoles qué habían estado haciendo conmigo y Rosti. Que hubiera publicado mis primeros resultados en Alemania oriental y que me hubiera referido profusamente a esa publicación en el artículo de *Nature* no impresionó a la Stasi. En cambio, inculcaron en los trabajadores del Museo la idea de que, según dijeron, la Universidad de Upsala es un conocido centro de propaganda antisocialista. Por muy ridícula que fuera esta caracterización de la más antigua universidad de Suecia, desde luego ningún ciudadano

germanooriental en su sano juicio hubiera tenido nada que ver con nosotros después de que la Stasi les dijera esto.

Me deprimió lo infructuoso de tratar con un sistema totalitario. Habiendo vislumbrado momentos en que nuestros dos sistemas políticos en competencia podrían haberse acercado, quizá catalizados por los contactos científicos, había esperado contribuir al proceso de alguna manera. Poco sabía del papel que Alemania oriental había de representar en mi vida, pero en aquel momento no estaban previstas ni las muestras ni la cooperación.

En Zúrich, empecé extrayendo DNA tanto de las muestras de la pequeña momia que me había quedado como de los especímenes del lobo marsupial. A pesar de mi entusiasmo por la PCR, conseguir que funcionara siguiendo el protocolo de Mullis no era ninguna broma. Suponía calentar el DNA a 98 °C en un baño de agua para separar las secuencias, luego enfriarlo en un baño de agua a 55 °C para permitir que los cebadores sintéticos atacaran sus objetivos, y después añadir la enzima sensible al calor e incubar la mezcla a 37 °C en un baño de agua para intentar conseguir que realizara las nuevas secuencias. Para cada experimento había que llevar a cabo este tedioso ciclo de manipulaciones al menos treinta veces. Pasé horas y horas frente a baños de agua humeante desperdiciando muchos tubos de ensayo de enzimas caras en mis intentos por amplificar trozos de DNA. A veces, fui capaz de generar un débil producto de DNA moderno, pero no tuve suerte con el DNA muy degradado del tilacino y de las muestras de momia. Tuve algo de éxito al mostrar, con el microscopio electrónico, que gran parte del DNA de la momia y del tilacino estaba en trozos pequeños. Algunas moléculas de DNA incluso se habían vinculado unas a otras por reacciones químicas, un rasgo que era seguro que las hacía intratables a la multiplicación tanto en bacterias como en la PCR en el tubo de ensayo. Esto no era sorprendente, dados algunos hallazgos que había hecho en 1985, cuando visité el laboratorio de Tomas Lin-

dahl en Hertfordshire, dejando Londres unas semanas. Tomas tiene ascendencia sueca, y es uno de los expertos en daño químico del DNA y de los sistemas que los organismos han desarrollado para repararlo. En su laboratorio yo había mostrado que había pruebas de varias formas de daño en el DNA que yo había extraído de los antiguos tejidos. Estos resultados, así como mis nuevos hallazgos en Zúrich, constituían sólida ciencia descriptiva, pero no me acercaban a mi meta de leer secuencias de DNA de criaturas extinguidas desde hacía mucho tiempo. Los meses pasaron frente a los baños de agua, así como en las pistas de esquí alpinas, pero no se produjeron avances, así que, con una sensación clara de alivio, en la primavera de 1987 cambié Zúrich por Berkeley, adonde había vuelto de residente Allan Wilson.

Al llegar al departamento de Bioquímica de la Universidad de California en Berkeley, pronto me di cuenta de que estaba en el lugar adecuado en el momento adecuado. Kary Mullis había sido estudiante de grado allí antes de marcharse a Cetus Corporation, al sur de la bahía, donde inventó la PCR. Varios estudiantes de grado y de posdoctorado de Allan trabajaban en Cetus. El resultado era que mientras yo había estado solo en mi lucha para conseguir que la PCR funcionara en Zúrich, en Berkeley había mucha gente trabajando en ello, y el resultado fue que se consiguieron muchas mejoras. En Cetus habían clonado y expresado una versión de la DNA polimerasa, la enzima usada en la PCR para hacer nuevas secuencias de DNA, a partir de una bacteria que crece a altas temperaturas. Como esta enzima podía sobrevivir a las altas temperaturas, no había necesidad de abrir los tubos de ensayo y añadir enzimas durante cada ciclo de PCR. Esto suponía que ahora todo el procedimiento podía automatizarse; de hecho, un posdoctorando del laboratorio había construido ya un artefacto en el que un pequeño baño de agua era alimentado con agua por tres baños de agua mayores en ciclos controlados por un ordenador. Esto permitía que la PCR se hiciera automática-

mente. Después de pasar meses frente a los baños de agua en Zúrich, esto era un progreso que apreciaba. Podía empezar una PCR y marcharme a casa por la noche (una práctica que mis colegas y yo tuvimos que abandonar después de una importante inundación en el laboratorio cuando no se cerró una válvula como se esperaba). Nuestra maquinaria de laboratorio innovadora pero poco fiable fue pronto sustituida por la primera máquina de PCR producida por Cetus. Se componía de un bloque de metal con orificios para los tubos de ensayo, que calentaría y enfriaría nuestras muestras a voluntad, durante cuantos ciclos quisiéramos, todo ello controlado por ordenador. Recuerdo el asombro que todos sentimos cuando fue instalada. Me agarré a la máquina, reservándola tantos turnos como me toleraran mis compañeros de laboratorio.

La extinta cebra sudafricana, el quagga, de la que Russell Higuchi había clonado dos muestras de DNA, se ofrecía como un primer paso. Russ había dejado el laboratorio de Allan por Cetus, pero algunas de sus muestras de quagga aún estaban allí. Extraje DNA de un trozo de piel de quagga. Sinteticé cebadores para las mismas secuencias mitocondriales que él había clonado, e inicié la PCR en la nueva máquina. Funcionó. Amplifiqué preciosas muestras de DNA de quagga, y cuando las secuencié vi que eran muy similares a las que Russell había determinado clonándolas en bacterias. El gran avance era que podía hacerlo de nuevo una y otra vez. La clonación bacteriana era tan ineficaz que la replicación de los hallazgos hubiera sido poco menos que imposible, porque era improbable que el procedimiento produjera la misma tira de DNA. Las secuencias de quagga que recuperé eran muy similares a las secuencias clonadas en bacterias, pero diferían en dos lugares de las secuencias de Russell, es probable que debido al daño molecular que había inducido a errores cuando las bacterias se pusieron a replicar sus muestras. Con la PCR, ahora podía volver a intentar la misma secuencia muchas veces

para asegurar que podía ser replicada con exactitud. Esto es lo que se supone que es la ciencia: reproducibilidad de resultados.

Publiqué los datos del quagga en *Nature*, con Allan como coautor[2]. Estaba claro que ahora era posible estudiar el DNA antiguo de una manera sistemática y controlada. Estaba seguro de que animales extintos, así como otros ancestros humanos, vikingos, romanos, faraones, neandertales, estarían pronto sujetos a los poderosos métodos de la biología molecular, aunque su puesta en marcha llevaría algún tiempo. (Después de todo, tenía que competir con mis compañeros de laboratorio para usar nuestra máquina de PCR). Uno de los intereses de Allan era el origen humano. No mucho antes, con Mark Stoneking y Rebecca Cann, había publicado un artículo en *Nature* comparando el DNA mitocondrial de personas de todo el mundo por medio de engorrosos análisis que utilizaban enzimas que cortaban el DNA en varios lugares de una secuencia conocida, indicando que el mtDNA podía rastrearse hasta un único ancestro común que vivió en África hace unos 100 000 a 200 000 años[3]. Ahora este trabajo podía ampliarse estudiando secuencias de DNA de muchos más individuos. Una joven estudiante de grado, Linda Vigilant, que llegaba al laboratorio cada mañana en motocicleta, estaba haciendo este trabajo. En general yo era consciente de su encanto aniñado, pero la consideraba sobre todo una competidora en el tiempo de uso de la codiciada máquina de PCR. No me imaginaba que más tarde, y en otro país, nos casaríamos y tendríamos hijos juntos.

Hasta aquí, la reconstrucción de la evolución humana a partir de datos genéticos se había limitado a estudiar diferencias en secuencias de DNA en individuos vivos e inferir cómo habían influido en estas diferencias las migraciones pasadas. Estas inferencias se basaban en modelos que reflejaban ideas sobre cómo las secuencias de DNA acumulaban cambios de nucleótidos y cómo las variantes se transmiten de generación en generación en po-

blaciones, pero los modelos eran, por necesidad, grandes simplificaciones de lo que podría haber ocurrido en el pasado. Por ejemplo, suponían que dentro de una población cada individuo tenía una oportunidad igual de tener hijos con cada uno de los demás individuos del sexo opuesto. También suponían que cada generación era una entidad discreta sin sexo intergeneracional y sin diferencia de supervivencia basada en las secuencias de DNA en estudio. A veces me parecía que esto suponía poco más que inventar historias sobre el pasado, y estaba muy claro que todo ello era indirecto. Retroceder en el tiempo y ver que de verdad las variantes genéticas habían existido en el pasado sería «pillar in fraganti a la evolución», como me gustaba decir, estudiando secuencias de DNA de muchos individuos del pasado, añadiendo observaciones históricas directas al trabajo que Linda estaba haciendo con personas que vivían en la actualidad.

Eran ideas ambiciosas, así que decidí experimentarlas en periodos de tiempo más modestos que los de miles de años. El Museo de Zoología de los Vertebrados de la Universidad de Berkeley albergaba enormes colecciones de pequeños mamíferos reunidas por naturalistas que trabajaron en el Oeste americano durante los últimos cien años. Con Francis Villablanca, un estudiante de grado del museo, y Kelley Thomas, un posdoctorando del laboratorio de Allan, me dispuse a estudiar las poblaciones de rata canguro, pequeños roedores conocidos por su tendencia a saltar sobre sus desmesuradamente largas patas posteriores (ver ilustración 3.1[*]). Son abundantes en el desierto de Mojave, en la frontera entre California, Nevada, Utah y Arizona, donde son el alimento preferido de las serpientes de cascabel. Extraje y secuencié mtDNA de la piel de varios de los del museo que habían sido recogidos en diferentes lugares en 1911, 1917 y 1937. Francis, Kelley y yo sacamos copias entonces de los cuadernos de campo y mapas de los zoólogos, y empezamos una serie de excursiones por el desierto de Mojave para poner trampas en las

mismas localizaciones. Condujimos por el desierto siguiendo los viejos mapas de campo e identificamos los lugares donde nuestros predecesores zoólogos habían estado hacía cuarenta a setenta años. A la puesta de sol, poníamos trampas entre arbustos de salvia y árboles de Josué. Dormir bajo las estrellas en las claras y tranquilas noches del desierto, interrumpidas solo de vez en cuando por el chasquido del cierre de nuestras trampas, fue un cambio agradable en mi vida cotidiana urbana y laboriosa.

De vuelta en el laboratorio, extrajimos y secuenciamos mtDNA de los roedores que habíamos recogido y los comparamos con las secuencias de animales que habían vivido unas cuarenta a setenta generaciones antes. Descubrimos que estas variaciones no habían cambiado de forma significativa a lo largo del tiempo, y aunque esta observación no era del todo inesperada, fue gratificante en el sentido de que fue la primera vez que se echaba un vistazo retrospectivo a los genes de la población ancestral de animales vivos de hoy. Publicamos nuestros hallazgos en el *Journal of Molecular Evolution*[4], y nos alegramos de encontrar un comentario entusiasta sobre nuestro trabajo de *Nature*[5] del prometedor biólogo evolutivo Jared Diamond, que decía que las nuevas técnicas permitidas por la PCR implicaban que «los especímenes antiguos constituyen una vasta fuente irreemplazable de material para determinar de manera directa los cambios históricos en las frecuencias de los genes, que están entre los datos más importantes de la biología evolutiva». También decía que «este proyecto de demostración le hará la vida más difícil a los que son demasiado estrechos de mente como para comprender el valor científico de los especímenes de museo».

Sin embargo, para mí, la historia evolutiva humana era el Santo Grial, y me preguntaba si la PCR abriría una ventana a nuestro pasado. En Upsala había conseguido una muestra de algunos descubrimientos asombrosos, aunque horripilantes, hechos en las dolinas de Florida. En estos depósitos alcalinos llenos de

agua, se encontraron antiguos esqueletos de nativos americanos; dentro de los cráneos se conservaban con sorprendente detalle los cerebros, aunque ligeramente encogidos. Utilizando técnicas anticuadas, había demostrado que la muestra contenida conservaba DNA humano, y presenté estos resultados en Cold Spring Harbor, junto con mis momias. A través de Allan, adquirí entonces una muestra de un hallazgo similar hecho en Florida de cerebros de 7000 años de antigüedad. Extraje DNA y recuperé fragmentos cortos que parecían ser una secuencia inusual de mtDNA, que existía en Asia pero que no se había visto antes en nativos americanos. Aunque encontré las secuencias dos veces en experimentos independientes, ya me había dado cuenta de que la contaminación con DNA moderno era un problema muy común, sobre todo cuando se estaban estudiando restos humanos antiguos. Así que advertí en el artículo de que «las pruebas indiscutibles de que las secuencias humanas amplificadas registradas aquí son de origen antiguo deben esperar un estudio más extenso»[6].

Sin embargo, esta investigación parecía prometedora; quizá necesitaba aprender más sobre genética de la población humana. Cuando Ryk Ward, teórico genetista poblacional de Nueva Zelanda que trabajaba en Salt Lake City, se puso en contacto con el laboratorio de Allan para aprender sobre la PCR, me ofrecí voluntario para trabajar con él. Esto se plasmó en una permuta mensual en Utah, donde enseñé al personal del laboratorio de Ryk a hacer PCR. Ryk, excelente genetista poblacional, también era un agradable excéntrico, dado a llevar pantalones cortos y calcetines por la rodilla incluso en tiempo frío, y a iniciar proyectos y tareas administrativas que no terminaba. Este último hábito no le granjeaba las simpatías de su Universidad, pero en el lado positivo le gustaba discutir de ciencia y tenía una paciencia casi infinita para explicar complicados algoritmos a personas como yo que por desgracia carecíamos de una formación matemá-

tica formal. Juntos estudiamos variaciones de mtDNA en los nuu-chah-nulth, un pequeño grupo aborigen de Canadá de la isla de Vancouver con los que Ryk había trabajado muchos años. Fue asombroso descubrir que los pocos miles de individuos de este grupo contenían casi la mitad de las variaciones de mtDNA que existen entre los pueblos nativos de todo el continente norteamericano. Este hallazgo me sugería que la creencia común de que estos grupos tribales en el pasado eran genéticamente homogéneos era un mito, y que, en cambio, es posible que los humanos siempre hayan vivido en grupos que contenían cantidades sustanciales de diversidad genética.

De vuelta en Berkeley, parecía que casi todo lo que habíamos intentado funcionaba. Cuando Richard Thomas, un posdoctorando canadiense, vino a aprender la PCR en el laboratorio y necesitó un proyecto, le sugerí que se diera una vuelta por el trabajo sobre el *Thylacinus cynocephalus*, el lobo marsupial que había sido mi frustración durante mi estancia en Zúrich. El tilacino, nativo de Australia, Tasmania y Nueva Guinea, se parecía mucho a un lobo, pero era un marsupial, como los canguros y otros diversos animales australianos. Por tanto, se trataba de un ejemplo de manual de evolución convergente, el proceso por el cual animales sin relación, en entornos semejantes y sujetos a presiones semejantes, a menudo desarrollan formas y comportamientos semejantes. Secuenciando pequeños fragmentos de mtDNA del lobo marsupial, demostramos que estaba estrechamente relacionado con otros marsupiales carnívoros de la zona, como el diablo de Tasmania, pero distante de los marsupiales sudamericanos, aunque algunos marsupiales extintos de allí se habían parecido mucho a los lobos. Esto quería decir que los animales parecidos a los lobos evolucionaron, no solo dos, sino tres veces, una entre los mamíferos placentarios y dos veces entre los marsupiales. Así, la evolución resultaba, en cierto sentido, repetible, una observación que ya se había hecho, y se haría de nuevo, en

estudios de otros grupos de organismos. Escribimos esto para *Nature*, y Allan me concedió aparecer como último autor, lugar ocupado por el científico que ha dirigido la investigación[7]. Esta fue mi primera vez, y supe que mi situación en la ciencia estaba empezando a cambiar. Hasta ahora, había sido alguien que hacía el trabajo en la mesa del laboratorio, y que lograba resultados haciendo experimentos por mi cuenta todo el día y a menudo gran parte de la noche; incluso cuando las ideas eran mías a menudo me ayudaban e inspiraban las discusiones con un supervisor. Ahora me daba cuenta de que esto estaba empezando a cambiar. Ya no hacía todos los experimentos yo solo. Poco a poco, tendría que ser uno de los que dirigieran e inspiraran a los otros. A la vez que esta perspectiva parecía desalentadora cuando pensaba en ella en abstracto, descubrí que hacerlo así me salía a menudo de una manera natural.

Mientras trabajaba con otros en muchas aplicaciones de la PCR al DNA antiguo, concentraba mis propios esfuerzos en comprender lo intrincado de la recuperación de DNA antiguo. Resumí el conocimiento acumulado durante mi trabajo en Upsala, Zúrich, Londres y Berkeley en un artículo en *Proceedings of the National Academy of Sciences*, mostrando que el DNA en restos antiguos era generalmente de escasa longitud, contenía muchas modificaciones químicas y a veces exhibía enlaces cruzados entre moléculas[8]. El estado de degradación del DNA tenía varias implicaciones para el trabajo que se hacía con la PCR. Su principal consecuencia era la inviabilidad de la utilización de la PCR para recuperar fragmentos largos de DNA antiguo. Cualquiera por encima de 100 o 200 nucleótidos era en general imposible. También descubrí que cuando había pocas, o ninguna, moléculas tan largas para que operara la DNA polimerasa de forma continua de un cebador al otro, la polimerasa a veces unía fragmentos más cortos de DNA, produciendo combinaciones como de monstruo de Frankenstein que no existían en el genoma original del anti-

guo organismo. La formación de estas moléculas híbridas a través del procedimiento, que yo llamé «PCR saltadora», es una complicación técnica importante que puede confundir los resultados cuando se amplifica DNA antiguo, lo cual describí en dos artículos, pero pasé por alto por completo sus implicaciones mayores. Como suele ocurrir, unos pocos años más tarde, Karl Stetter, un científico de orientación más práctica, usó el mismo procedimiento de unión para combinar trozos de genes diferentes para generar nuevos genes «mosaico» que hicieran proteínas con nuevas propiedades. Esta idea —que yo, centrado por completo en mis incursiones al pasado, no había logrado considerar en absoluto— constituyó la base de una nueva rama de la industria biotécnica.

A la vez que había muchas cosas que funcionaban bien en el laboratorio de Allan, también empezaron a hacérseme patentes las limitaciones de las nuevas técnicas y de la conservación del DNA. En primer lugar, no todos los restos antiguos contenían DNA que pudiera recuperarse y estudiarse, incluso con la PCR. De hecho, aparte de los especímenes de museo que habían sido preparados inmediatamente después de la muerte de un animal, pocos ejemplos antiguos arrojaban DNA que pudiera amplificarse. En segundo lugar, en las muestras antiguas que sí albergaban DNA, su estado degradado suponía que en general solo se podían amplificar las piezas que tuvieran una longitud de 100 a 200 nucleótidos. En tercer lugar, a menudo era poco menos que imposible amplificar el DNA nuclear de viejos especímenes. Mi sueño en Upsala de encontrar fragmentos largos de DNA nuclear antiguo parecía no ser más que eso, un sueño.

★ ★ ★

Mi vida en Bay Area era intensa y satisfactoria, tanto en el laboratorio como fuera de él. Siempre me han atraído tanto los hombres como las mujeres, y había sido activista del movimien-

to por los derechos de los gais en Suecia. En Bay Area, la epidemia de sida estaba creciendo con rapidez y se llevó por delante la vida de miles de hombres jóvenes. Como sentía que tenía que hacer algo para ayudar, me había unido como voluntario al proyecto contra el sida de East Bay. Allí viví con dos de los aspectos más hermosos de la sociedad americana: la autoorganización y el voluntariado, hábitos de los que a menudo carece Europa. Pero, a pesar de este ambiente acogedor y de las oportunidades científicas que encontré en Estados Unidos, quería acabar volviendo a Europa. Fue una novia quien habría de tener una influencia decisiva en el camino que tomaría el resto de mi vida. Barbara Wild, una estudiante de grado de genética, estaba visitando Berkeley, y me la presentó Walter Schaffner, que había organizado su estancia allí. Era enérgica, guapísima y elegante. Tuvimos un romance corto pero intenso, que continuó incluso después de que ella volviera a su Múnich natal. Aproveché todas las oportunidades para visitar Europa; en una ocasión nos encontramos durante un romántico y casi ridículo fin de semana en Venecia. Gran parte de mi vida afectiva desde mi adolescencia se había centrado en enamoramientos de hombres heterosexuales, muchos de los cuales acabaron en poco más que amigos. Era una experiencia estimulante pasearme con Barbara por Venecia y comportarme en público de una manera como nunca me había atrevido con mis anteriores novios.

Para conferirle a mis frecuentes viajes a Múnich un barniz científico, hice varias visitas al departamento de genética de la Ludwig-Maximilians-Universität, donde Barbara era estudiante de grado. Una vez, incluso impartí allí un seminario sobre mis experimentos con el DNA antiguo. Después de mi seminario, el biólogo molecular Herbert Jäckle me preguntó si me interesaría un puesto de profesor asistente que estaría disponible en un par de meses. Dije que sí, como una oportunidad de pasar más tiempo de manera permanente con Barbara. Pero en una visita poste-

rior a Múnich me di cuenta de que ella se había comprometido con otro científico, uno que estudiaba la mosca de la fruta, igual que ella. De hecho, más tarde se convirtió en su marido. Volví a Berkeley e hice todo lo posible por olvidar a Barbara y Múnich.

Seis meses más tarde, empecé a buscar trabajo en serio. Visité la Universidad de Cambridge, donde se me ofreció un lectorado; visité Upsala, donde se me ofreció un puesto de asistente de investigación. Entonces, una noche Alemania volvió a cazarme, en forma de Charles David, el decano nacido en América de la Facultad de Biología de Múnich, que me llamó a Berkeley. ¿Consideraría trasladarme a Múnich si la Universidad me ofrecía un puesto de profesor en exclusiva en lugar de uno de asistente?

Esto supondría un avance enorme en mi carrera. Por lo general, uno espera ser profesor asistente durante cierto número de años antes de ser profesor titular. Esto no era solo un título, sino que llevaba aparejados recursos, como un gran laboratorio, personal y fondos. Aun así dudé. Sabía poco de Alemania, excepto su reputación como hogar de una de las dos ideologías políticas del siglo. No tenía ni idea de si encajaría, o de si mi bisexualidad crearía problemas. Por fin, Charles y Herbert me convencieron de que Múnich era un lugar en el que se podía vivir bien y hacer ciencia, así que decidí intentarlo. Mi plan era aprovechar la oportunidad ofrecida por el puesto de profesor en Múnich y hacer un buen trabajo allí durante unos cuantos años para poder después volverme a Suecia. Acepté su oferta y llegué a Múnich con dos grandes maletas una mañana temprano de enero de 1990, preparado para empezar mi vida científica independiente en un mundo nuevo para mí y que me daba un poco de miedo.

CAPÍTULO 4

DINOSAURIOS EN EL LABORATORIO

Poner en marcha un laboratorio es un desafío, sobre todo la primera vez que se hace, y aún más cuando lo haces en un entorno no familiar. En mi caso, el entorno era nuevo en más de un sentido. En primer lugar, estaba cargado de historia alemana. El edificio donde había de trabajar, el Instituto de Zoología de la universidad, había sido construido y donado a la universidad por la Fundación Rockefeller durante la gran depresión de los años treinta. Fue bombardeado durante la guerra por los americanos, y fue reconstruido por la fundación después de la guerra. Así que encarnaba la complicada y polifacética relación entre Alemania y Estados Unidos, un péndulo que ha oscilado una y otra vez entre los extremos de la guerra y la alianza. El instituto estaba situado entre la estación de ferrocarril y el complejo de edificios erigidos por Hitler para albergar el cuartel general del partido nazi. Se rumoreaba que bajo el sótano había un túnel usado antaño por el führer y sus socios para trasladarse de la estación al cuartel general. Verdad o no, el rumor simbolizaba mis temores al fascismo alemán latente y subterráneo.

Otro aspecto novedoso del entorno fue que mi nombramiento era para el Instituto de Zoología. Nunca había estudiado zoología, ni siquiera biología de nivel universitario, solo medicina, ya que en Suecia se puede entrar directamente en la Facultad de Medicina después del instituto. Esta carencia se puso demasiado de manifiesto casi en cuanto llegué, cuando un viejo profesor me preguntó si a lo mejor podía dar el curso de taxonomía de los insectos el siguiente semestre. Aún era víctima del desfase horario y estaba preocupado por otras cuestiones, así que sin pensarlo mucho expresé mi sorpresa por que un instituto de zoología se ocupara de insectos, ya que los insectos apenas eran animales. En mi mente, los «animales» eran cosas con garras, piel y preferible-

mente orejas. El profesor me miró con incredulidad y se fue sin pronunciar palabra. De inmediato me avergoncé de haberme mostrado como un completo estúpido en la primera semana de mi nuevo trabajo. Pero lo bueno fue que nadie volvió a sugerir nunca que enseñara ningún tipo de taxonomía o entomología en el Instituto.

Cuando me estaba instalando, supe que mi predecesor había muerto de manera inesperada por intoxicación alimentaria. Era obvio que no iba a ser fácil conseguir la confianza de todos sus colegas, algunos de los cuales me consideraban un extranjero inexperto y excéntrico, un usurpador de clases. Esto se puso de manifiesto en una relación desconcertante con Hansjochem Autrum, un profesor emérito mentor de mi predecesor. El profesor Autrum había sido una figura prestigiosa de la zoología alemana; cuando llegué a Múnich aún editaba *Naturwissenschaften*, una revista de biología alemana todavía influyente, y tenía un despacho en el mismo piso que mi laboratorio. Durante mis primeros días en Múnich, cuando me cruzaba con él en la escalera le saludaba con cordialidad, pero él no me contestaba. Uno de mis técnicos me contó que después se le oyó lamentarse en voz alta de que muchos buenos científicos jóvenes alemanes no podían encontrar trabajo y que lo que hacía el departamento era contratar «basura internacional» (*internationaler Schrott*). Decidí ignorarle a partir de entonces. Muchos años después, tras su muerte, pasé a ser miembro de una prestigiosa organización alemana a la que él había pertenecido, y leí su obituario en su homenaje. El autor de este texto apuntaba que antes de 1945 el profesor Autrum había sido miembro no solo del partido nazi, sino también de los Sturmabteilung (los SA) [tropas de asalto] y había impartido cursos de ideología nacionalsocialista en una universidad de Berlín. Aunque en general tengo un deseo algo exagerado de gustarle a todo el mundo, me sentí retrospectivamente justificado en mi fracaso en haber sido amigo suyo.

Por fortuna, el profesor Autrum era una excepción en el Instituto. También por fortuna, representaba a una generación que estaba desapareciendo en Alemania. Poco a poco, gracias a ser sincero sobre mi ignorancia no solo de la taxonomía sino de la mayoría de las cosas zoológicas y administrativas, conseguí convencer incluso a los técnicos de más edad de mi grupo, y pronto quisieron ayudarme a construir algo que sería nuevo y emocionante. Charlie y Herbert, por su parte, fueron de gran ayuda. Cuando la necesaria renovación del laboratorio resultó más cara de lo que yo había previsto, la Universidad aportó dinero adicional. Lentamente, pero con seguridad, el equipamiento que necesitaba fue llegando, y se organizó todo. Y lo que es aún más importante, algunos estudiantes mostraron su interés por trabajar conmigo.

Desde el punto de vista científico, sentía que necesitábamos ser sistemáticos en el establecimiento de procedimientos fiables para amplificar DNA antiguo. En Berkeley, había empezado a darme cuenta de que la contaminación de este tipo de experimentos con DNA moderno era un serio problema, sobre todo cuando se utilizaba la PCR. Con las nuevas máquinas de PCR y la DNA polimerasa resistente al calor, el procedimiento era lo bastante sensible como para que en circunstancias favorables un puñado de moléculas de DNA, o quizá incluso una sola molécula, pudiera iniciar la reacción. Esto suena muy bien, pero podía inducir a error. Si, por ejemplo, un espécimen de museo no contenía DNA antiguo conservado, pero sí unos pocos fragmentos de DNA de algún conservador del museo, podíamos poner en marcha de forma involuntaria el estudio del DNA del conservador en lugar del estudio del DNA de un antiguo sacerdote egipcio. Por supuesto, los animales extintos presentaban muchas menos posibilidades de inducirnos a error; de hecho, fue en el curso de estos trabajos cuando me di cuenta por primera vez del enorme potencial de contaminación, ya que, en algunas ocasiones,

intentando amplificar secuencias de mtDNA de restos de animales, había conseguido en su lugar secuencias de mtDNA humano. En 1989, poco después de dejar Berkeley por Múnich, había publicado un artículo con Allan Wilson y Russell Higuchi, cuyo trabajo sobre el quagga yo había replicado, en el que presentábamos lo que llamábamos criterios de autenticidad; se trataba de procedimientos que pensábamos que había que llevar a cabo antes de considerar de verdad antigua una secuencia de DNA recuperada[1]. Recomendábamos que, cada vez que se llevaran a cabo extracciones de viejos especímenes, se procesara en paralelo un «extracto en blanco», es decir, un extracto sin tejido antiguo pero con todos los demás reactivos que había que usar. Esto nos permitía detectar DNA que pudiera acechar en los reactivos mismos, que llegaban al laboratorio desde diversos proveedores. Además, había que repetir varias veces las extracciones y las PCR, para asegurar que una secuencia de DNA podía replicarse al menos dos veces. Y, por último, me había dado cuenta de que casi ningún fragmento de DNA antiguo medía más de 150 nucleótidos. Abreviando, llegué a la conclusión de que muchos experimentos que se habían llevado a cabo hasta entonces que pretendían haber aislado DNA antiguo eran muy ingenuos.

A posteriori, ahora me daba cuenta de que la secuencia de momia que había hecho pública en 1985 era sospechosamente larga, ya que mi siguiente trabajo había demostrado que el DNA antiguo estaba casi siempre degradado en pequeños fragmentos. Uno de dos factores podía explicar por qué la secuencia que descubrí, como otro grupo demostró, procedía de un gen antígeno de trasplante[2] (en concreto el tipo de genes que habíamos estudiado en nuestro laboratorio de Upsala): o bien porque había identificado la secuencia con una muestra de esos genes, o bien porque un fragmento de DNA del laboratorio había contaminado mis experimentos. Dada la longitud de la secuencia, la contaminación parecía mucho más probable. Me consolé con el pensa-

miento de que así es como progresa la ciencia: los experimentos más antiguos son superados por los más recientes y mejores. Y estaba contento por haber sido yo quien mejorara mi propio trabajo. Con el tiempo, también apareció ayuda de fuera de nuestro campo. En 1993, Tomas Lindhal publicó un breve comentario en *Nature* en el que sugería que, para el campo del DNA antiguo[3], eran necesarios criterios muy parecidos a los que habíamos defendido en 1989[4]. Fue de gran ayuda que un científico respetado de fuera de nuestro campo señalara esto. Sobre todo dada mi preocupación por el hecho de que la investigación sobre DNA antiguo suele llamar la atención de personas sin una formación sólida en biología molecular o bioquímica, personas que, atraídas por la atención mediática que acompaña a muchos hallazgos de resultados de DNA antiguo, simplemente aplican la PCR a cualquier espécimen antiguo por el que resulte que están interesados. Practican lo que en el laboratorio nos gustaba llamar «biología molecular sin licencia».

En aquel momento, pensando en qué proyectos embarcarme en mi nuevo laboratorio, me sentía inclinado en concreto a estudiar la historia humana por medios moleculares. Era un tema fascinante, pero, tal y como se practicaba en general, estaba acribillado de conjeturas y sesgos a partir de ideas preconcebidas sobre la historia. Aspiraba a dar un nuevo rigor al estudio de la historia humana investigando la variación de la secuencia del DNA en los antiguos humanos. Una posibilidad evidente era estudiar a los humanos de la Edad de Bronce que se conservaban en las turberas de Dinamarca y el norte de Alemania. Pero al leer más sobre ellas me di cuenta de que esos cadáveres se habían conservado porque las condiciones ácidas de las turberas los habían curtido. Las condiciones ácidas conducen a una pérdida de nucleótidos y rotura de las cadenas y por tanto son pésimas para la conservación del DNA. Pero, aún peor, la tendencia a encontrar

DNA humano incluso en restos de animales sugería que el trabajo con antiguos humanos podía ser muy problemático.

Así que en lugar de esto empezamos a recolectar muestras de animales extintos, como los mamuts siberianos. Y empezamos a hacer experimentos controlados de manera sistemática. Por ejemplo, mis primeros estudiantes de posgrado, Oliva Handt y Matthias Höss, utilizaron cebadores específicos para mtDNA humano. Para mi consternación, descubrieron que podían amplificar DNA humano en casi todas nuestras muestras animales y en general también en los extractos en blanco. Hicimos nuevos reactivos a partir de recipientes nuevos que acababan de ser entregados al laboratorio, pero tampoco fue de ayuda. Lo hicimos una y otra vez, intentando ser tan meticulosos como nos fuera posible, pero mes tras mes continuamos encontrando DNA humano casi en cada experimento. Empecé a desesperarme. ¿Cómo podíamos fiarnos de los datos, a menos que se ajustaran por completo a nuestras expectativas, como por ejemplo hallar secuencias de marsupial en un lobo marsupial? Y si solo podíamos fiarnos de los resultados esperados, desde luego resultaría muy aburrido el campo del DNA antiguo, ya que nunca podríamos descubrir lo inesperado, lo cual es, por supuesto, la esencia del trabajo experimental y el sueño de todo científico.

Todas las noches volvía caminando a casa frustrado e impaciente con nuestros experimentos fallidos. Pero cada vez se me hizo más claro que seguía siendo ingenuo sobre el problema de la contaminación. No había sacado las conclusiones lógicas de mi conocimiento de la extrema sensibilidad de la PCR. En Berkeley, y durante el primer periodo de Múnich, extraíamos DNA de especímenes de museo en nuestras mesas del laboratorio, las mismas mesas donde manejábamos grandes cantidades de DNA de humanos y otros organismos en los que estábamos interesados. Si incluso una gotita microscópica de una solución de DNA moderno se introducía en el extracto de DNA antiguo, el DNA

moderno podría trastocar las escasas moléculas antiguas que pudieran haber procedido del tejido antiguo. Esto podía ocurrir aun cuando no cometiéramos errores obvios, como olvidarnos de cambiar el tapón de plástico de una pipeta.

Para mí resultó claro que lo que necesitábamos era conseguir una separación física completa entre la extracción y manejo del DNA de tejidos antiguos y todos los demás experimentos del laboratorio. En particular, necesitábamos aislar estos experimentos de la PCR, donde se producían billones de moléculas. Necesitábamos un laboratorio dedicado en exclusiva a la extracción y amplificación del DNA antiguo, así que localizamos una pequeña habitación sin ventanas en nuestra planta, que vaciamos por completo y repintamos, y luego dedicamos un tiempo a pensar cómo podíamos destruir el DNA que estuviera escondido en las nuevas mesas e instrumentos que habíamos comprado para este laboratorio. Se nos ocurrieron algunos tratamientos agresivos. Limpiamos todo el laboratorio con lejía, que oxida el DNA. Instalamos lámparas ultravioletas en el techo y las dejamos encendidas toda una noche, ya que la luz UV causa estragos en las moléculas de DNA. Y compramos nuevos reactivos para nuestro laboratorio nuevo, el primer «cuarto limpio» del mundo dedicado a trabajar en el DNA antiguo (ver ilustración 4.1[*]). Estas medidas mejoraron drásticamente las cosas. Nuestros extractos blancos se volvieron limpios, mientras que, para mi satisfacción, algunas de nuestras muestras continuaron albergando DNA. Pero de forma gradual, a lo largo de los meses, los blancos volvieron a aparecer con DNA. Me puse furioso. ¿Qué estaba pasando? Tiramos todos nuestros reactivos y los compramos nuevos.

Las cosas volvieron a mejorar, pero solo por un tiempo. Era el momento de la paranoia, y la paranoia provocó no solo mi manía por la limpieza en el cuarto limpio, sino también el establecimiento de algunas reglas severas sobre cómo trabajar en un cuarto limpio, reglas que hasta hoy siguen siendo obligatorias. En

primer lugar, se limitó el acceso a un grupo selecto, que hacía experimentos allí, en este caso mis dos estudiantes de posgrado, Oliva y Matthias. Antes de entrar en el cuarto limpio, cada uno de ellos se ponía una bata de laboratorio especial, un gorro para el cabello, calzado especial, guantes y una careta. Tras algunas frustraciones extras con extractos blancos contaminados, decidí que solo podían entrar en el cuarto limpio cuando venían directamente de casa por la mañana. Si primero pasaban por habitaciones donde pudiera haber productos de PCR, estaban proscritos del cuarto limpio el resto de la jornada laboral. Todos los productos químicos tenían que entregarse directamente en el cuarto limpio, y compramos nuevo equipo que también fue directamente allí. Poco a poco, las cosas mejoraron. Aun así, todas las soluciones nuevas y productos químicos necesarios tenían que ser comprobadas por la PCR en busca de rastros de DNA humano, y no era raro que se descartara un lote. Todo ello suponía trabajo para Oliva y Matthias, que se me habían unido con la esperanza de estudiar humanos antiguos y animales extintos, y se encontraron en cambio revisando productos químicos y preocupándose del contagio.

Pero el ambiente general del laboratorio mejoró cuando nuestros esfuerzos empezaron a rendir. A medida que nuestros extractos se volvieron limpios, pudimos empezar a trabajar en otros temas metodológicos. Hasta entonces, todo nuestro trabajo se había hecho sobre tejidos blandos, como la piel y el músculo. Pero me acordé de que una de mis muestras de momia que albergaban DNA en Upsala procedía de cartílago, un tejido no muy distinto del hueso. Si se podía extraer DNA de huesos antiguos en lugar de solo tejidos blandos, eso abría la puerta a grandes oportunidades, ya que los huesos son en general lo que se conserva de individuos antiguos. En 1991, Erika Hagelberg y J. B. Clegg, de la Universidad de Oxford, habían publicado un artículo en el que describían la extracción de DNA de huesos de

antiguos humanos y animales[5]. Así que, cuando el problema de la contaminación estuvo bajo control, Matthias ensayó muchos métodos para conseguir DNA de huesos, centrándose en animales en los cuales el riesgo de contaminación era mucho menor (ya que el DNA animal era raro en nuestro laboratorio). Entre ellos estaba un protocolo descrito en publicaciones sobre extracción de DNA de microorganismos. Se basaba en el hecho de que el DNA se une a partículas de sílice, sobre todo un polvo de cristal muy fino, en soluciones que contienen grandes concentraciones de sal. Las partículas de sílice pueden entonces ser lavadas cuidadosamente para deshacerse de todo tipo de componentes desconocidos que estaban en muchas de las muestras y que podían interferir con la PCR. Por último, se podía liberar el DNA de las partículas de sílice bajando la concentración de sal. Este procedimiento de extracción era un procedimiento arduo, pero funcionaba y supuso un importante paso adelante.

Matthias y yo publicamos el método de la extracción de sílice en 1993; en el experimento se utilizaron huesos de caballo del Pleistoceno, y la secuencia de mtDNA que se obtuvó probó que podíamos recuperar DNA de huesos que tenían una antigüedad de 25 000 años, la primera vez que se presentaban secuencias fiables de DNA de antes de la Edad de Hielo[6]. Con pequeñas modificaciones, este es todavía hoy el protocolo de extracción utilizado en la mayoría de las extracciones de DNA antiguo. Las numerosas frustraciones que precedieron a este artículo eran evidentes en nuestra observación inicial de que nuestro campo profesional reciente estaba «marcado por los problemas». Pero esto estaba cambiando poco a poco. De hecho, sin darnos cuenta de ello, en aquel momento, Matthias y Oliva habían puesto los cimientos de gran parte de lo que estaba por llegar en los próximos años. En 1994, Matthias recuperó las primeras secuencias de DNA de mamuts siberianos, trabajando con cuatro individuos de entre 9700 y más de 50 000 años de antigüedad. Enviamos es-

te trabajo a *Nature*, donde se publicó junto con resultados semejantes de Erika Hagelberg, que había aislado DNA de huesos de dos mamuts[7]. Aunque estas secuencias de DNA eran muy cortas, apuntaban a lo que sería posible si se pudieran recuperar más secuencias. Vimos, por ejemplo, que había muchas diferencias entre las secuencias de DNA de los cuatro mamuts. Podíamos plantearnos no solo clarificar la relación de los mamuts con los dos miembros vivos del mismo orden, los elefantes indio y africano, sino también rastrear la historia de los mamuts desde el Pleistoceno Superior hasta su extinción hace unos 4000 años. Las cosas estaban empezando a parecer más luminosas para el DNA antiguo.

También fue una época en que nuestras habilidades para extraer DNA y hacer PCR se aplicaron a otros materiales biológicos bastante menos convencionales. Felix Knauer, un biólogo de fauna silvestre de la Universidad, apareció un día por mi despacho y me preguntó por la aplicación de nuestras técnicas a la «genética de la conservación», el campo que trata de aplicar la genética al problema de cómo proteger mejor las especies en peligro. Felix había recogido heces de la última población salvaje superviviente de osos italianos, que vivían en las pendientes meridionales de los Alpes. Invité a Felix y a otros pocos estudiantes a ensayar nuestro método de extracción de sílice y la PCR en las heces de los osos. Demostramos que podíamos amplificar mtDNA de oso de estos excrementos. Hasta entonces, la única manera de conseguir DNA de un animal salvaje era, o bien matarle, o bien dispararle con un dardo tranquilizante y extraerle sangre, un procedimiento arriesgado, y desde luego muy molesto para el animal. Ahora podíamos estudiar la relación genética de los osos italianos con otras poblaciones de osos europeos sin molestar a los osos en absoluto. Publicamos este trabajo en un pequeño artículo en *Nature*, en el que también mostrábamos que podíamos recuperar DNA de las plantas que los osos habían comido y a

partir de ahí reconstruir aspectos de su dieta[8]. La extracción de DNA de los excrementos recogidos en la naturaleza se ha convertido desde entonces en una práctica común en la biología de la fauna silvestre y de la genética de la conservación.

Mientras desarrollábamos con esfuerzo métodos para detectar y eliminar la contaminación, nos sentíamos frustrados por publicaciones sensacionalistas en *Nature* y *Science* cuyos autores, de una manera superficial, tenían mucho más éxito que nosotros y cuyos logros empequeñecían los escasos productos de nuestros engorrosos esfuerzos por recuperar secuencias de DNA que «solo» tenían unas pocas decenas de miles de años de antigüedad. Esta tendencia había comenzado en 1990, cuando aún estaba en Berkeley. Unos científicos de la Universidad de California en Irvine publicaron una secuencia de DNA de hojas de *Magnolia latahensis* que habían sido halladas en un yacimiento del Mioceno en Clarkia, Idaho, y que tenían 17 millones de años[9]. Era un logro asombroso que parecía sugerir que se podía estudiar la evolución del DNA en una escala temporal de millones de años, ¡quizá incluso retrocediendo hasta los dinosaurios! Pero yo era escéptico. De lo que había aprendido en el laboratorio de Tomas Lindahl en 1985, había concluido que era posible que fragmentos de DNA sobrevivieran miles de años, pero millones era algo que parecía increíble. Allan Wilson y yo hicimos algunas extrapolaciones, basadas en el trabajo de Lindahl, en las cuales determinamos durante cuánto tiempo sobreviviría el DNA si hubiera agua y las condiciones no fueran ni demasiado calientes ni demasiado frías, ni demasiado ácidas ni demasiado básicas. Concluimos que después de unas decenas de miles de años, y quizá, en circunstancias extraordinarias, unos pocos cientos de miles de años, las últimas moléculas habrían desaparecido. Pero ¿quién sabe? Quizá había algo muy especial en esos yacimientos de fósiles de Idaho. Antes de ir a Alemania visité el lugar. Los depósitos estaban hechos de arcilla oscura, que era retirada con una excava-

dora. Al ser abiertos, los bloques de arcilla revelaban hojas verdes de magnolio, que enseguida se volvían negras al exponerse al aire. Recogí muchas de estas hojas y las llevé conmigo a Múnich. En mi nuevo laboratorio, intenté extraer DNA de las hojas y encontré que contenían muchos fragmentos largos de DNA. Pero no pude amplificar ningún DNA de planta con la PCR. Como sospechaba que el largo DNA era de bacterias, probé cebadores para DNA bacteriano y obtuve un éxito inmediato. Era evidente que las bacterias habían crecido en la arcilla. La única explicación razonable era que el grupo de Irvine, que trabajaba con genes de plantas y no usaba un «laboratorio limpio» separado para su trabajo, había amplificado algún DNA contaminante y pensó que procedía de las hojas fósiles. En 1991, Allan y yo publicamos nuestros cálculos teóricos en un artículo sobre la estabilidad del DNA[10], y en un segundo artículo describimos mis intentos fallidos por obtener DNA de las plantas fósiles de Idaho[11]. Fue una época triste, ya que Allan había caído gravemente enfermo con leucemia el año anterior. A pesar de todo, hizo contribuciones sustanciales a ambos artículos. Murió en julio de aquel año a la temprana edad de 56 años.

Ingenuo como siempre, pensé que nuestro artículo que señalaba la imposibilidad de la supervivencia de DNA a lo largo de millones de años detendría la búsqueda de un DNA tan extraordinariamente antiguo. Pero en lugar de ser el final de la historia, los fósiles de plantas de Idaho fueron el inicio de todo un nuevo campo de investigación. Los siguientes DNA antiquísimos que surgieron fueron hallados en ámbar. El ámbar es la resina exudada por árboles hace millones de años y solidificada en dorados grumos translúcidos; se encuentra en grandes cantidades en canteras de la República Dominicana y en las costas del mar Báltico, entre otros lugares. No es raro encontrar insectos, hojas o incluso animales pequeños, como ranas de árbol, incrustados en resina. Estas inclusiones a menudo conservan exquisitos detalles de

organismos que vivieron hace millones de años, y muchos investigadores deseaban que pasara lo mismo con su DNA. Uno de los primeros de estos artículos apareció en 1992, cuando un grupo del Museo Americano de Historia Natural publicó un artículo en *Science* en el que presentaba secuencias de DNA de una termita de 30 millones de años de antigüedad encastrada en un trozo de ámbar dominicano[12]. A este le siguió en 1993 toda una serie de artículos de un laboratorio dirigido por Raúl Cano en la Universidad Estatal Politécnica de California, en San Luis Obispo, incluido uno sobre DNA de un gorgojo de entre 120 y 135 millones de años encontrado en ámbar libanés[13], y otro de DNA de una hoja de 40 millones de años de antigüedad del árbol dominicano que producía el ámbar[14]. Cano pasó a fundar una empresa que pretendía haber aislado más de 1200 organismos a partir del ámbar, incluidas nueve antiguas cepas de levadura viva. Dejando de lado estas extravagantes afirmaciones, me parecía que no se podía descartar la posibilidad de que el DNA pudiera conservarse durante un tiempo extraordinariamente largo en ámbar, puesto que es probable que estuviera protegido del agua y el oxígeno, los dos factores más destructivos para la química del DNA. Sin embargo, esta suposición no significaba necesariamente protección de los efectos de la radiación ambiental a lo largo de millones de años, ni explicaba por qué habíamos luchado tanto para amplificar rastros de DNA mil veces más joven.

La oportunidad para descubrirlo llegó en 1994, cuando Hendrik Poinar se unió a nuestro laboratorio. Hendrik era un jovial californiano, hijo de George Poinar, entonces profesor de Berkeley y respetado experto en ámbar y las criaturas encontradas en su seno. Hendrik había publicado algunas de las secuencias de DNA junto con Raúl Cano, y su padre tenía acceso al mejor ámbar del mundo. Hendrik vino a Múnich a trabajar a nuestro nuevo cuarto limpio. Pero no pudo repetir lo que había hecho en San Luis Obispo. De hecho, a pesar de que sus extractos blan-

cos estuvieran limpios, no consiguió ninguna secuencia de DNA del ámbar, con independencia de que lo intentara con insectos o plantas. Yo cada vez era más escéptico, y estaba en buena compañía. En 1993, Tomas Lindahl, que había estado interesado en el DNA antiguo ya desde mi visita a su laboratorio en 1985, publicó un estudio muy influyente sobre la estabilidad y decadencia del DNA en *Nature*, en el cual dedicó una sección al DNA antiguo[15]. Señaló, como yo había hecho antes con Allen, que la supervivencia más allá de unos pocos millares de años era improbable. Dejó abierta la posibilidad de que el DNA de especímenes encastrados en ámbar fuera una excepción. Mientras tanto, sin embargo, yo ya me había dado por vencido incluso con el ámbar.

Tomas había dado también con el término perfecto para el DNA antiquísimo: *DNA antediluviano*. Nos encantó, lo aplicamos, y se consolidó. Pero esta falta de perspectivas no desanimó a los entusiastas. Lo inevitable ocurrió en 1994, cuando Scott Woodward, de la Universidad Brigham Young de Utah, publicó secuencias de DNA que él y sus colegas habían extraído de fragmentos de hueso de 80 millones de años, hueso que «parecía» que procedía de un dinosaurio o dinosaurios[16]. Como era de esperar, este artículo apareció en una de las dos revistas que compiten por trabajos dignos de titulares y que disfrutan de un prestigio científico a menudo inmerecido. Esta vez fue *Science*. Los autores habían determinado muchas secuencias diferentes de mtDNA de los fragmentos de hueso, y algunas de ellas les parecían a los autores que distaban tanto de aves y reptiles como de mamíferos. Sugerían que podían ser secuencias de DNA de dinosaurios. A mí me pareció absurdo. Completamente frustrado por la manera en que se había desarrollado este trabajo de campo, Hans Zischler, un meticuloso e incluso algo pedante posdoctorando de mi laboratorio, decidió comprobar estas conclusiones en concreto. Cuando hicimos un análisis más riguroso de las secuencias de DNA que el grupo de Utah había publicado, resultó que se acer-

caban más a mtDNA de mamífero, o incluso de humano, que al de aves o reptiles.

Pero no acababa de parecer que fuera del todo mtDNA humano. Explicar lo que eran requiere explicar un poco más la naturaleza del mtDNA. Recuérdese que los genomas mitocondriales son moléculas circulares de DNA de 16 500 nucleótidos que residen en mitocondrias, orgánulos situados fuera del núcleo de la célula en casi todas las células animales. Estos orgánulos, así como sus genomas, proceden originariamente de bacterias que hace casi 2000 millones de años entraron en células animales primordiales y fueron secuestradas por estas células para producir energía. A lo largo del tiempo, las bacterias secuestradas transfirieron la mayor parte de su DNA al núcleo de la célula, donde el DNA se integró en la mayor parte del genoma, situado en los cromosomas. Incluso hoy, en la línea germinal humana, cuando se forman los óvulos y los espermatozoides, se romperá de forma ocasional una mitocondria y acabarán en el núcleo de la célula fragmentos de su DNA. Allí, unos mecanismos eficaces de reparación reconocen los extremos de cadenas rotas de DNA y los unen a otros extremos de DNA que pueden existir si ocurre que el genoma nuclear también transporta una rotura. Por tanto, cada dos por tres, fragmentos de mtDNA se integran en nuestro genoma nuclear, donde, sin tener ninguna función, son transmitidos a nuevas generaciones. Cada uno de nosotros transporta cientos, si no miles, de estos fragmentos mitocondriales descolocados en nuestros núcleos de células que se han integrado en nuestro genoma en diversos momentos del pasado. Estos fragmentos tienen diferentes grados de semejanza con nuestro verdadero mtDNA mitocondrial; aunque se parecen a secuencias ancestrales de mtDNA, han acumulado mutaciones, al no tener límites impuestos por requisitos funcionales en su nueva vida como basura genética encapsulada en el DNA nuclear. Hans Zischler había trabajado en nuestro laboratorio en la detección de es-

tas integraciones de mtDNA en el genoma nuclear, y al considerar el supuesto DNA de dinosaurio, nos preguntamos si estos fragmentos de mtDNA podrían ser lo que había descubierto el grupo de Utah. Dada nuestra experiencia con la contaminación por DNA humano, nos parecía probable que hubieran hallado versiones nucleares de mtDNA con mutaciones no usuales. Decidimos buscar en el genoma nuclear humano las secuencias que habían publicado. El problema con nuestro plan era que cualquier preparación normal de DNA procedente de células humanas acababa conteniendo una mezcla de DNA nuclear y mitocondrial, y los cientos y miles de copias de verdadero mtDNA en la mitocondria de la mayoría de las células se cruzarían en el camino de nuestros intentos por detectar cualesquiera segmentos de mtDNA que hubieran dejado la mitocondria y se hubieran establecido entre el DNA nuclear. En este punto nos ayudó la biología. Como se indicaba en el capítulo 1, heredamos nuestro mtDNA exclusivamente de nuestras madres vía óvulo, y no recibimos mtDNA de nuestros padres. Se debe a que las cabezas de los espermatozoides que penetran en los óvulos no contienen mitocondrias. Por tanto, para conseguir DNA nuclear sin acompañamiento de mtDNA, nuestro laboratorio tan solo necesitaba aislar cabezas de espermatozoides.

Hablé con mis estudiantes de grado varones, y había tanto entusiasmo por nuestro trabajo como para que, una mañana, cada uno por su cuenta aportara espermatozoides, de los que Hans separó cuidadosamente las cabezas por centrifugación. Luego purificó el DNA de las cabezas de los espermatozoides y utilizó los mismos cebadores para la PCR que se había usado el grupo de Utah. Como era de esperar, obtuvo muchas secuencias de fragmentos de mtDNA nuclear, que nosotros a continuación cribamos en busca de cualquier semejanza con las secuencias de «dinosaurio» de Utah. Encontramos dos que eran casi idénticas a las secuencias publicadas. Esto quería decir que en lugar de DNA de

dinosaurio, el grupo de Utah había secuenciado trozos de mtDNA humano desplazado del genoma nuclear humano. Como estos segmentos habían dejado el genoma mtDNA humano en el pasado remoto, habían adquirido suficientes mutaciones como para parecer algo lejanos de los humanos, aunque aún semejantes a los mamíferos, aves y reptiles. No pude evitar mostrarme un poco burlón al escribir el «comentario técnico» para *Science*[17] sugiriendo que había tres posibilidades para explicar cómo podíamos obtener secuencias de DNA muy semejantes a las de Utah utilizando nuestro propio DNA en nuestro laboratorio. La primera era que tuviéramos contaminación en nuestro laboratorio de DNA de dinosaurio, lo cual sugería que era improbable. La segunda era que los dinosaurios se hibridaron con mamíferos tempranos antes de extinguirse hace unos 65 millones de años. Esta alternativa también era rechazada por improbable. El tercer (y más plausible) escenario era la contaminación por DNA humano en los experimentos de dinosaurios. *Science* publicó nuestras observaciones junto a comentarios de dos grupos más, que también apuntaban deficiencias en las comparaciones de secuencias de DNA que habían llevado al grupo de Utah a afirmar que las secuencias de mtDNA parecían de ancestros de aves.

Fue divertido escribir estos comentarios, pero a la vez algo amargo, dado que estudios como el de Utah se habían convertido en un rasgo constante en el campo del DNA antiguo. El problema de los resultados de perfil alto pero dudoso todavía es una plaga en la investigación del DNA antiguo hoy. Como mis estudiantes y posdoctorandos me han señalado a menudo, es fácil generar resultados extravagantes con la PCR, pero es difícil demostrar que son correctos; a pesar de ello, una vez que los resultados están publicados, es aún más difícil mostrar que están equivocados y explicar de dónde procedía la contaminación. En este ejemplo, tuvimos éxito, pero nuestros esfuerzos supusieron mucho trabajo y no hicieron avanzar nuestra investigación. Hasta la

fecha, no está claro de dónde procedían las secuencias de ámbar que se publicaron en *Nature* y *Science*. Con bastante trabajo, estaba seguro de que se podrían encontrar las fuentes, pero decidí que ya habíamos tenido bastante. Como dijo un estudiante, «dejemos de jugar a la policía de la PCR». Decidimos a partir de entonces ignorar aquellos informes que pensábamos que eran erróneos y concentrarnos en nuestro propio trabajo. Creíamos que nuestro mejor servicio al campo de estudio era establecer métodos para recuperar DNA de fuentes que tenían una antigüedad de unas decenas de miles de años y demostrar que los resultados eran genuinos y correctos. Con antiguos restos humanos esto era difícil, si no imposible, ya que el DNA humano moderno acechaba por casi por todas partes. Así que, aunque me doliera, necesitaba olvidarme de la historia humana por el momento y dirigir mi trabajo a los animales antiguos. Después de todo, era profesor del departamento de zoología. Decidí que nos centraríamos en cuestiones referentes a las relaciones de los animales extintos con sus parientes actuales.

CAPÍTULO 5

FRUSTRACIONES HUMANAS

Durante sus expediciones de recolección en Sudamérica en la década de 1830, Charles Darwin se sintió fascinado, y al mismo tiempo perplejo, con los restos fósiles de varios grandes mamíferos herbívoros. Estas criaturas parecían mucho más grandes que los animales que vivían en la zona en aquel momento. Junto a ejemplares de cada animal y ave vivos que pudo capturar, Darwin recogió una cantidad de fósiles que envió a Inglaterra, incluida una gran mandíbula inferior que se erosionaba en un acantilado costero en Argentina. El anatomista Richard Owen analizó la mandíbula y se la atribuyó a un perezoso gigante del tamaño de un hipopótamo, al que bautizó como *Mylodon darwinii* (ver ilustración 5.1[*]). Aún más interesante que la idea de un herbívoro tan grande era la idea de que podría incluso seguir existiendo, vivo, en algún lugar de la Patagonia salvaje. En 1900, el sensacional descubrimiento de excrementos en apariencia frescos y restos de piel de lo que parecían ser perezosos gigantes motivó una expedición de un tal *Mr*. Hesketh Prichard en busca de esta maravilla. Después de viajar unos tres mil kilómetros por la Patagonia, Prichard enseguida concluyó que «no había encontrado el menor rastro de ningún tipo que respaldara la idea de la supervivencia del *Mylodon*»[1]. Y ello por una buena razón: hoy sabemos que se extinguió durante la última Edad de Hielo, hace unos 10 000 años.

Los perezosos de dos y tres dedos posteriores existen hoy en Sudamérica, pero, como pesan entre cinco y diez kilogramos, podemos considerarlos de tamaño modesto comparados con el *Mylodon*. Y a diferencia del *Mylodon*, tanto los perezosos de dos dedos como los de tres viven en los árboles. Pero parece que se han adaptado a la vida en los árboles solo en tiempos recientes, en términos evolucionistas, ya que son bastante grandes para ma-

míferos arborícolas y no son demasiado ágiles en el aire, por lo que prefieren bajar a tierra para rutinas tan mundanas como la defecación. La gran pregunta era si los ancestros de los perezosos arbóreos se habían adaptado a la forma de vida arborícola solo una vez, y no con una habilidad especial, o si las dos formas de perezoso arbóreo eran ejemplos de adaptaciones paralelas, por medio de las cuales los perezosos que vivían en el suelo en el pasado se habían adaptado a los árboles al menos dos veces de manera independiente. Si ocurrió de forma independiente más de una vez —si la historia se repitió, por así decirlo—, ello sugiere que hay un número limitado de maneras mediante las cuales los animales pueden adaptarse a un reto ecológico. Cada uno de estos casos de convergencia, cuando dos o más organismos no relacionados desarrollan comportamientos o formas corporales semejantes, es una prueba de que la evolución sigue unas reglas, y contribuye a deducir cómo funcionan esas reglas. Un ejemplo de esto era el lobo marsupial que habíamos estudiado en Zúrich y Berkeley. En el caso de los perezosos arbóreos, así como en el caso del lobo marsupial, podríamos determinar si la convergencia se había producido si pudiéramos aclarar cómo estaba relacionado el perezoso gigante de Darwin con los perezosos arbóreos de dos y tres dedos.

Visité el Museo de Historia Natural de Londres y pasé un buen rato allí con Andrew Currant, el amable conservador de los mamíferos del Cuaternario, experto en paleontología de los mamíferos y con una complexión no muy diferente de la de un gran mamífero del Pleistoceno. Me mostró algunos de los huesos fosilizados que Darwin se había traído, y me permitió cortar un trozo pequeño de dos de los huesos del *Mylodon* patagónico de su colección. También visité el Museo Americano de Historia Natural de Nueva York y también allí conseguí muestras para nuestro estudio. Pero fue en el museo de Andrew donde viví una demostración clara de la facilidad con que se podían conta-

minar los especímenes de animales antiguos que estudiamos. Mientras estaba examinando huesos de perezoso con Andrew, le pregunté si quizá habían sido tratados con barniz. Ante mi asombro, cogió un hueso y lo lamió. «No», dijo, «estos no han sido tratados», y me explicó que si un hueso había sido tratado con barniz, no absorbía la saliva. Por el contrario, un hueso sin tratar lo hacía con tanta eficacia que la lengua tendía a pegarse al hueso. Me quedé horrorizado y me pregunté cuántas veces se habría llevado a cabo este «test» durante el centenar de años o más que algunos de los huesos con los que trabajábamos habían estado en museos.

Una vez que las muestras estuvieron en Múnich, Matthias Höss les aplicó sus técnicas. Como siempre, insistí en que primero prestáramos atención a la vertiente técnica de las cosas. Mi interés por los perezosos a fin de cuentas se debía sobre todo al interés en la recuperación de DNA antiguo. Matthias realizó un análisis aproximado para estimar la cantidad total de DNA en su extracto de *Mylodon* y otro análisis tosco para medir cuánto de este era semejante al DNA de un perezoso moderno. Resultó que aproximadamente un 0,1% del DNA de nuestro mejor extracto de hueso de *Mylodon* era del animal mismo, y que el resto procedía de otros organismos que habían vivido en esos huesos después de que el perezoso gigante muriera. Desde entonces, esto se ha convertido en lo habitual en muchos restos antiguos que hemos estudiado.

Centrándose en fragmentos de DNA mitocondrial, Matthias se las arregló para utilizar la PCR para reconstruir una tira de mtDNA del *Mylodon* de una longitud de más de mil nucleótidos amplificando cortos fragmentos superpuestos. Al determinar y comparar las mismas secuencias procedentes de muestras de perezosos vivos, pudo demostrar que el perezoso gigante, que medía más de tres metros alzado sobre sus patas traseras, estaba más estrechamente relacionado con el perezoso actual de dos dedos

que con el de tres. Esto era importante, ya que si los perezosos de dos y tres dedos habían estado relacionados entre sí de forma más estrecha y más distanciados en relación con el *Mylodon* (que era la opinión de la mayoría de los científicos de la época), podría indicar que tenían un ancestro común que se había hecho arborícola. Nuestro resultado sugería que los perezosos habían evolucionado al menos dos veces a formas que eran pequeñas y habían pasado la mayor parte de su vida en los árboles (ver ilustración 5.2[*]).

El hecho de que tanto el lobo marsupial como los perezosos arbóreos resultaran ser ejemplos de evolución convergente fue para mí un llamativo mensaje de que a menudo la morfología no es un indicador fiable de la relación entre organismos. Parecía que casi cualquier forma corporal o comportamiento podía evolucionar de forma independiente si un cambio del entorno creaba una presión a favor de un cambio en la forma de vida. A mí me parecía que las secuencias de DNA ofrecían una oportunidad mucho mejor de calibrar cómo estaban relacionadas entre sí las especies. Las secuencias de DNA pueden acumular cientos y miles de mutaciones a lo largo del tiempo, cada una de las cuales se produce con independencia de las demás, y la mayoría de las cuales no tienen influencia sobre el aspecto o el comportamiento de un organismo. Por el contrario, la medición de rasgos morfológicos se hace necesariamente sobre características que muy bien podrían afectar a la supervivencia del organismo, y los tamaños de diferentes rasgos, como diversos huesos, podrían estar ligados entre sí. Debido al gran número de puntos independientes de datos variables que pueden acumularse, las secuencias de DNA permiten la reconstrucción de las relaciones con mayor rigor que los rasgos morfológicos. De hecho, en contraste con los rasgos morfológicos, incluso la cadencia de las divergencias con respecto a un ancestro común puede deducirse del número de diferencias que se han acumulado en las secuencias de DNA, ya

que estas diferencias se dan en función del tiempo, al menos dentro de un grupo de animales relacionados.

Matthias utilizó este tipo de análisis de «reloj molecular» y calculó el número de diferencias de nucleótido y mutaciones subyacentes que se habían acumulado en los mtDNA de los miembros del grupo de animales al que pertenecían los perezosos, que incluye los armadillos y osos hormigueros. Descubrió que este grupo de animales es sorprendentemente antiguo. Empezaron a diversificarse antes de que se extinguieran los dinosaurios, hace unos 65 millones de años. Este calendario es válido también para algunos grupos más de mamíferos, así como para aves, de tal manera que muchos grupos de animales actuales se remontan a antepasados que se originaron en un tiempo en que los dinosaurios dominaban la Tierra. Antaño hubo muchas formas diferentes de perezosos que vivían en el suelo, pero hoy solo hay perezosos arbóreos. Hasta nuestro descubrimiento de que los perezosos arbóreos de hoy no tienen un ancestro común, había sido razonable pensar que las formas arbóreas podrían compartir alguna adaptación fisiológica desconocida pero importante que les permitió sobrevivir, quizá frente al cambio climático durante la última glaciación. Pero si no compartían un ancestro común, esto parecía menos probable. Era más plausible que el factor esencial de su supervivencia fuera el más obvio: que viven en los árboles. Acabamos nuestro artículo con la especulación de que la vida en los árboles podría haberles ayudado a sobrevivir a la llegada de los humanos, que parece que cazaron a los perezosos que vivían en el suelo, de movimiento lento, llevándoles a la extinción[2]. Aunque continúa el debate sobre si fueron los factores ecológicos o la caza excesiva por los humanos lo que causó la desaparición de la megafauna americana, como los perezosos que vivían en el suelo, hace unos 10 000 años, nos alegramos de que el DNA antiguo pudiera añadir una pieza al rompecabezas. Habíamos demostrado que se podían recuperar secuencias fiables de

DNA de animales que habían vivido hace miles de años, y que esto podía arrojar bastante información para proporcionar una perspectiva nueva sobre su evolución.

A mediados de los noventa, el campo de los estudios del DNA antiguo, en cierta forma, se había estabilizado. Muchos investigadores habían llegado a la conclusión de lo que era posible y lo que no. Las colecciones zoológicas de pieles y otras partes de animales que habían sido secadas poco después de morir podían usarse de manera habitual para la extracción de DNA, como habíamos demostrado con nuestras investigaciones en ratas canguro, en Berkeley. Se continuaron con estudios sobre las tuzas, conejos y muchos otros animales, y, durante la década de 1990, varios de los grandes museos zoológicos instalaron laboratorios moleculares dedicados al estudio del DNA tanto de sus viejas colecciones como de nuevas muestras recogidas en concreto con esta finalidad. La Institución Smithsoniana de Washington, DC, y el Museo de Historia Natural de Londres estuvieron entre los primeros en hacerlo, y fueron seguidos por otros. De la misma forma, científicos forenses analizaron DNA que ahora podían extraer y amplificar a partir de pruebas recogidas muchos años atrás. Esto llevó a los tribunales a anular condenas de personas encarceladas por error y a nuevos avances en la identificación de restos y en la detención de criminales, basados en pruebas genéticas. El abatimiento de mis primeros años en Múnich, cuando mi grupo y yo habíamos luchado contra la contaminación y otros problemas metodológicos mientras otros publicaban insensatas secuencias de DNA con antigüedades de millones de años en *Science* y *Nature*, se veía ahora sustituido por la sensación de satisfacción porque todo había merecido la pena. El campo estaba ahora establecido. Era hora de volver al viejo reto: los restos humanos.

Como se ha dicho, hay muchísimas formas en que el DNA humano moderno puede contaminar un experimento. El con-

servador de Londres había mostrado una manera muy obvia cuando puso la lengua en el hueso de perezoso, pero el polvo, los malos reactivos y muchas más cosas también planteaban problemas. La historia humana era, para mí, la meta última. La cuestión era si, a pesar de los impedimentos, podíamos encontrar un camino hacia adelante.

Oliva Handt se dedicó a esta búsqueda. Oliva es una persona cálida, casi maternal, que tendía a ser hipercrítica con su propio trabajo. Sentí que esta era una cualidad excelente para el trabajo que estaba a punto de emprender. Tenía que lidiar con los mismos problemas que Matthias en su trabajo con el perezoso, pero además tenía que preocuparse por la extraña partícula de polvo que podría aterrizar en un tubo de ensayo donde se guardaba el extracto de un hueso humano antiguo. Si no había aterrizado esa partícula de polvo en el extracto blanco llevado a cabo en paralelo con el extracto de hueso, entonces podría ser difícil o imposible decir si la secuencia que ella había determinado era o no del hueso o de una partícula de polvo contaminante. Por esta razón, decidimos que Oliva trabajaría sobre restos nativos americanos, cuyos mtDNA contenían ciertas variantes no halladas en europeos. Aunque no me gustaba hacer experimentos en los que solo serían creíbles los resultados acordes con expectativas preestablecidas, esta parecía ser una de las pocas maneras con las que podíamos ejercer de manera fiable los métodos para recuperar secuencias de DNA humano antiguo. Así que Oliva empezó a trabajar sobre esqueletos y restos humanos momificados del suroeste americano que tenían unos 600 años de antigüedad. Mientras se esforzaba en ello, repitiendo sus extracciones una y otra vez para comprobar la reproducibilidad de sus resultados, se produjo una oportunidad demasiado buena como para haberla dejado escapar.

En septiembre de 1991, dos senderistas alemanes habían encontrado el cuerpo momificado de un hombre en los Alpes, en el Oetztal, cerca de Hauslabjoch, en la frontera entre Austria e Ita-

lia. Tanto ellos como las autoridades con las que contactaron, creyeron en un principio que se trataba de un cadáver moderno, quizá una víctima de la guerra o un desafortunado senderista que se había perdido en una tormenta de nieve. Pero después de sacar el cuerpo del hombre del hielo lo que quedaba de su ropa y equipo dejaba claro que no era un soldado o senderista reciente; más bien, había muerto en el paso alpino hacía unos 5300 años, durante la Edad del Cobre. A través de los medios de comunicación me enteré de que tanto el gobierno austriaco como el italiano reclamaban que la momia había sido encontrada en su territorio. También hubo disputas entre los descubridores y los funcionarios gubernamentales sobre tarifas de hallazgos, y dificultades con el personal del departamento de Patología de la Universidad de Innsbruck, en Austria, que guardó el cuerpo congelado y lo escondió celosamente de los forasteros. En resumen, parecía un desastre legal y general. Por tanto, me sorprendió mucho cuando, en 1993, contactó conmigo un profesor de Innsbruck para preguntarme si queríamos analizar el DNA del Hombre del Hielo —u Oetzi, como se le había llegado a llamar, por el nombre del valle en el que había sido encontrado—. Pensábamos que un cuerpo que había estado congelado de forma permanente durante más de 5000 años estaría mucho mejor conservado que cualquier momia de Egipto o huesos de Norteamérica. Y decidimos intentarlo.

Oliva y yo nos trasladamos a Innsbruck, donde los patólogos extrajeron ocho pequeñas muestras de la cadera izquierda de Oetzi, que había sido dañada cuando el cuerpo (hasta entonces aún no reconocido como antiguo y único) fue liberado del hielo alpino por medio de un mazo. De vuelta en Múnich, Oliva se dispuso a extraer y amplificar mtDNA. Estábamos todos entusiasmados cuando obtuvo buenos productos de la PCR, pero, cuando los secuenció, las secuencias no resultaron interpretables. En muchas posiciones, parecía haber presencia de varios nucleóti-

dos. Para resolver esto, volvió al viejo método de clonación que yo había usado en Upsala; clonó cada producto de la PCR y luego secuenció varios clones. Como cada clon procedía de un solo fragmento de DNA original que había sido amplificado por la PCR, pudo ver si todos los fragmentos originales de DNA portaban la misma secuencia de nucleótido, como sería de esperar si procedieran de un solo individuo o si portaban diferentes secuencias y por tanto procedían de diferentes individuos. Este último resultó ser el caso, y de hecho, diferentes muestras dieron diferentes mezclas de secuencias. Era una locura. La mayor parte, si no todo, del mtDNA debía de proceder de las personas que habían manejado el Hombre del Hielo desde que había sido descubierto. ¿Cómo podíamos determinar si una secuencia procedía o no del Hombre del Hielo? Después de todo, en términos evolucionistas, no había vivido hacía tanto tiempo, así que sin duda tendría una versión de mtDNA semejante o idéntica a la que se encontraba en los europeos actuales, y parecía que muchos europeos habían estado en contacto con él desde su descubrimiento.

Por fortuna, dos de las muestras que habíamos obtenido en Innsbruck eran lo bastante grandes como para que pudiéramos quitar el tejido superficial y extraer material de la parte interior no tocada de la muestra, con la esperanza de que si hubiera contaminación estaría sobre todo en la superficie. Esto ayudó, pero solo hasta cierto punto. Oliva encontró seis posiciones en las que vio una mezcla de secuencias que sugerían que el número de diferentes variantes de mtDNA era menor, y que procedía quizá de tres o cuatro individuos. Pero las secuencias no se agrupaban con claridad en tres o cuatro clases de secuencias idénticas. Oliva encontró que las variantes en las seis posiciones estaban revueltas entre las moléculas, sobre todo cuando miró las posiciones más alejadas unas de otras. Esto debía de ser el resultado de la «PCR saltadora» que yo había descrito en Berkeley, según la cual, en lugar de copiar un solo trozo de DNA continuo, la polimerasa

pega juntos trozos de DNA en nuevas combinaciones. ¿Podía desentrañarse esta mezcla revuelta de secuencias de DNA para que pudiéramos decidir cuál de aquellas secuencias, si es que lo era alguna, era del Hombre del Hielo?

Sosteníamos que el fenómeno de salto debía darse sobre todo en intentos de amplificar trozos más largos de DNA y no en los más cortos, porque sería más probable que los trozos más cortos se hubieran conservado intactos en los tejidos, mientras que era más probable que los más largos estuvieran unidos a moléculas o contaminantes. Así que Oliva hizo una PCR de trozos muy cortos y esto ayudó. Cada vez que amplificaba piezas más cortas de 150 nucleótidos, no solo no conseguía secuencias revueltas sino que casi todos sus clones portaban la misma secuencia. El panorama se iba aclarando. Nuestros extractos contenían una secuencia de mtDNA que estaba allí en grandes cantidades pero degradada en trozos más cortos. También contenían secuencias de mtDNA de una o dos personas adicionales que eran menos frecuentes y estaban menos presentes en los trozos más largos. Nuestra propuesta era que el DNA más abundante y degradado era probable que procediera del Hombre del Hielo, mientras que los otros DNA, que eran menos abundantes pero también menos degradados, era probable que procedieran de individuos modernos que habían contaminado el Hombre del Hielo.

Amplificando cada uno de los trozos cortos al menos dos veces, clonándolos, y secuenciando varios clones a partir de cada producto de amplificación, Oliva pudo por fin reconstruir la secuencia de mtDNA que era probable que tuviera el Hombre del Hielo cuando vivía. Los fragmentos superpuestos que generó determinaron una secuencia de poco más de 300 nucleótidos. Solo dos sustituciones lo distinguían de una secuencia de referencia usada por lo común para el moderno mtDNA europeo, y la secuencia idéntica no es infrecuente en Europa hoy. El resultado tampoco era tan inesperado. Desde la perspectiva de alguien

que espera vivir 80 o 90 años, 5300 años es un tiempo largo, que representa a unas 250 generaciones. Desde una perspectiva evolucionista, sin embargo, es un tiempo corto. A menos que desastres mayores, como epidemias, maten a la mayor parte de una población o se produzcan desplazamientos importantes de población, no cambiaría mucho en nuestros genes en 250 generaciones. De hecho, mis compañeros de laboratorio y yo habíamos previsto que como mucho se habría producido una mutación en el segmento que estudiábamos desde la Edad del Cobre.

Pero antes de que pudiéramos publicar nuestros resultados, nos enfrentamos con un obstáculo adicional: nuestra regla, nacida de la frustración por los muchos resultados no fiables publicados en este campo, según la cual los resultados importantes o inesperados debían repetirse en un segundo laboratorio. La secuencia que habíamos determinado del Hombre del Hielo no era biológicamente inesperada, pero llamaría la atención, así que esta era una oportunidad para mostrar cómo debían hacerse las cosas. Decidimos enviar una de nuestras muestras de tejido no usadas a Oxford, donde Bryan Sykes, un genetista que había abandonado su anterior carrera en enfermedades del tejido conjuntivo para trabajar en la variación del mtDNA en humanos y en DNA antiguo, estaba ansioso por ayudarnos. Un estudiante de Sykes extrajo y amplificó un trozo de la secuencia que habíamos determinado y nos devolvió la secuencia informada. Era idéntica a la de Oliva, y describimos nuestros hallazgos en un artículo en *Science*[3].

Aunque considerada un éxito en su momento, para mí esta experiencia mostró sobre todo lo difícil que era trabajar con restos humanos antiguos. El Hombre del Hielo había estado congelado y era de esperar que se mantuviera muy bien conservado, y, además, había sido encontrado solo dos años antes, por lo que no demasiada gente había tenido la oportunidad de contaminarlo, y a pesar de todo habíamos encontrado una mezcla de diferentes

secuencias que había sido difícil clasificar. Habíamos tenido éxito gracias a la paciencia y perseverancia de Oliva y a lo que suponíamos que quizá fuera la secuencia correcta, que necesariamente se basaba en suposiciones sobre las diferentes poblaciones de moléculas en el tejido. Cualquier estudio de evolución humana reciente, en el que se necesitara estudiar poblaciones de muchos individuos, quizá todos conservados como esqueletos, parece una tarea abrumadora.

En el lado positivo, habíamos logrado una enorme cantidad de experiencia con materiales de muestras de humanos y una mejor apreciación de las dificultades inherentes. Para sacarle provecho, Oliva volvió a los restos de nativos americanos, y tal y como esperábamos, no resultó fácil. Mi amigo Ryk Ward lo organizó para que consiguiéramos diez muestras de momias que tenían unos 600 años de antigüedad de Arizona, en el suroeste americano. Como se podría imaginar, el resultado fue comparable al del análisis del Hombre del Hielo. De nueve de los individuos, Oliva no pudo amplificar nada en absoluto o encontró secuencias tan mezcladas que fue imposible determinar si alguna de ellas era endógena del individuo. Solo en un caso fue capaz de hacer amplificaciones cortas, y secuenciando muchos clones de amplificaciones repetidas mostró que esta muestra contenía un número elevado de moléculas y que estas procedían de un mtDNA que se parecía a las secuencias de mtDNA encontradas en los nativos americanos modernos. Algo frustrados, escribimos, en el resumen de un artículo de 1996 que describía el trabajo de Oliva, que «estos resultados muestran que es necesario más trabajo experimental del que a menudo se emplea para asegurar que las secuencias amplificadas de DNA de restos antiguos humanos son auténticas»[4]. Esto, como es obvio, también era una crítica implícita a gran parte del trabajo que otros estaban llevando a cabo sobre restos humanos antiguos.

A pesar de todos los esfuerzos de Oliva, decidí en ese momento abandonar todo trabajo sobre restos humanos antiguos. Otros laboratorios continuaron publicando resultados, pero yo sentía que gran parte de lo que aparecía era poco fiable. La situación era en extremo frustrante[5]. En 1986, había dejado lo que parecía el inicio de una prometedora carrera en investigación médica porque quería introducir nuevos y precisos métodos de estudio de la historia humana en Egipto y otros lugares. Hacia 1996, había podido establecer métodos fiables que habían transformado los museos zoológicos en verdaderos bancos de genes y hacían posible el estudio de mamuts, perezosos de tierra, caballos ancestrales y otros animales de la última Edad de Hielo. Todo esto estaba bien y era bueno, pero no era donde estaba mi corazón, y me preocupaba convertirme en zoólogo contra mi voluntad.

Estos pensamientos no me torturaban a diario, pero una y otra vez, cuando reflexionaba sobre lo que debería hacer en el futuro, me sentía frustrado. Lo que *quería* era esclarecer la historia humana, pero parecía casi imposible estudiar a los humanos antiguos, porque, en la mayoría de los casos, su DNA no se podía distinguir del de las personas vivas. Pero después de un tiempo me di cuenta de que quizá podía hacer algo de una relevancia incluso mayor para entender la historia humana que el estudio del DNA de la gente de la Edad del Bronce o las momias egipcias. Quizá podía estudiar a gente de otro tipo, gente que había estado en Europa mucho antes que el Hombre del Hielo, los neandertales.

Volver a los neandertales podría parecer extraño, dado que había renegado de los antiguos humanos. Lo importante para mí fue que podíamos esperar que tuvieran secuencias de DNA que fueran diferentes con claridad de las de los humanos actuales. No solo porque vivieron hace más de 30 000 años sino también porque habían tenido una larga historia diferente de la nuestra. Algunos paleontólogos estimaban que compartimos un ancestro

común con ellos hace al menos 300 000 años, y algunos decían que eran una especie diferente. Desde el punto de vista anatómico, los neandertales parecían muy diferentes de los humanos actuales y también de los tempranos humanos modernos que vivían en otros lugares de Europa por la misma época. Pero los neandertales son los parientes evolutivos más próximos de todos los humanos contemporáneos. Estudiar cómo diferimos genéticamente de nuestros parientes más próximos podría permitirnos descubrir qué cambios separaban a los ancestros de los humanos actuales de todos los demás organismos del planeta. En esencia, estaríamos estudiando quizá la parte más fundamental de la historia humana, el origen biológico de los humanos plenamente modernos, los antepasados directos de todas las personas vivas en la actualidad. Esta investigación nos podría decir también con exactitud cómo están relacionados los neandertales con nosotros. El DNA neandertal me parecía lo más atractivo que podía imaginar. Y por pura suerte estaba en Alemania, donde está situado el valle de Neander, donde se había encontrado al primer neandertal, el llamado espécimen tipo para definir a los neandertales. Necesitaba entrar en contacto con urgencia con el Museo de Bonn donde se alojaba el espécimen tipo neandertal. No tenía idea de si los conservadores serían reacios a darme una muestra. Este espécimen tipo era, después de todo, lo que algunos (quizá en un intento por olvidar ciertos aspectos de la historia alemana del siglo XX) llamaban «el alemán más conocido». Era una especie de tesoro nacional no oficial.

Durante meses me preocupó cómo enfrentarme a esto. Demasiado bien sabía lo complicado que podía ser trabajar con conservadores de museo, a los que se había confiado la difícil tarea de conservar especímenes valiosos para las generaciones futuras, y a la vez facilitar la investigación. Había aprendido que, en algunos casos, consideraban que su papel principal era ejercer el poder, rechazando el acceso a especímenes aun cuando la posible ganan-

cia en conocimiento superara con mucho el valor de preservar un pequeño trozo de hueso. Si uno se acercaba a estos conservadores de la manera equivocada, podían decir que no y entonces, por razones obvias de orgullo humano, les sería difícil desdecirse de su palabra. Mientras me preocupaba por esto, un día recibí, en una curiosa coincidencia, una llamada telefónica de Bonn. Quien llamaba era Ralf Schmitz, un joven arqueólogo que, junto con el conservador del Museo de Bonn, era responsable del espécimen tipo neandertal. Me preguntó si me acordaba de una conversación que habíamos tenido unos años antes.

Me recordó que en 1992 había preguntado cuáles eran las posibilidades de éxito si se quería intentar obtener DNA de un neandertal. Esta conversación se me había ido de la cabeza, ya que era una de tantas que había tenido con arqueólogos y conservadores de museos. Ahora me acordaba. En aquel momento no había sabido qué contestar. Mi impulso inmediato y ligeramente irresponsable había sido sugerir que las posibilidades eran altas, para que pudieran cederme con facilidad un hueso neandertal. Pero casi con la misma rapidez me había dado cuenta de que la honestidad era el mejor camino para avanzar. Después de alguna duda, dije que en mi opinión podríamos tener una posibilidad de un 5% de éxito. Ralf me dio las gracias y no volví a saber nada más de él desde entonces.

Ahora, casi cuatro años más tarde, Ralf estaba al teléfono y me dijo que sí que podríamos conseguir un trozo del neandertal del valle de Neander. Resultó, según me dijo Ralf más tarde, que otros se habían dirigido al museo para solicitar muestras, diciendo que estaban casi seguros de poder extraer DNA utilizable del espécimen. Las autoridades del museo habían decidido entonces con prudencia recabar la opinión de otro laboratorio y le habían pedido a Ralf que entrara en contacto conmigo. No solo nuestra trayectoria, sino también nuestra aparente honradez al sugerir que las posibilidades eran pequeñas habían convencido a

Ralf y al museo de que seríamos sus mejores colaboradores. Resultó que eran lo opuesto a los conservadores obstruccionistas por los que había estado preocupándome. Estaba encantado.

Lo que siguió fueron semanas de discusiones con el museo sobre cuánto material óseo obtendríamos, y de qué parte del esqueleto. En total había como la mitad de un esqueleto de lo que parecía un individuo varón. Nuestra experiencia había mostrado que las mejores posibilidades de éxito estaban en el hueso compacto, por ejemplo, una parte de la caña de un hueso de un brazo o una pierna, o la raíz de un diente, mejor que huesos finos con una gran cavidad de médula, como las costillas. Acabamos poniéndonos de acuerdo en un trozo de hueso de la parte superior del brazo derecho, de una parte en la que la caña no tuviera crestas u otros rasgos de interés para los paleontólogos, que estudian cómo los músculos están ligados a los huesos. También quedó claro que no podríamos retirar la muestra nosotros mismos. Ralf y un colega vinieron a vernos a Múnich, y les dimos una sierra estéril, ropa de protección, guantes estériles, y contenedores en los que almacenar la muestra, y se marcharon. Al final, quizá fue una suerte que no me dejaran poner yo mismo la sierra en el neandertal arquetípico. Es probable que me hubiera sentido demasiado intimidado por este fósil icónico y habría cortado un trozo pequeñísimo, quizá demasiado pequeño como para tener éxito. Cuando recibimos la muestra, nos impresionó el tamaño de lo que habían sacado, 3,5 gramos de lo que parecía hueso blanquecino muy bien conservado (ver ilustración 5.3[*]). Ralf nos informó que cuando serraron el hueso, se difundió por la habitación un nítido olor a hueso quemado. Nos pareció que esto era una buena señal: significaba que el colágeno, la proteína que constituye la matriz del hueso, se había conservado. Me acerqué con nerviosismo a mi estudiante de grado Matthias Krings, que había pasado más de un año en intentos estériles de extraer DNA de momias egipcias, con la bolsa de plástico que contenía el tro-

zo de espécimen tipo neandertal, y le pedí que le aplicara nuestros últimos y mejores métodos.

CAPÍTULO 6

UNA CONEXIÓN CROATA

Durante las semanas y meses siguientes a nuestra publicación de la secuencia de mtDNA neandertal, reflexioné sobre qué era lo que nos había llevado hasta allí. Había recorrido un largo camino desde mis primeros intentos, hacía dieciséis años, de extraer DNA de un trozo de hígado de ternera desecado del supermercado. Ahora, por vez primera, habíamos utilizado DNA antiguo para decir algo nuevo y profundo sobre la historia humana. Habíamos demostrado que el neandertal arquetípico tenía un DNA mitocondrial muy diferente del mtDNA de las personas de hoy, y que él y sus parientes no habían aportado nada, antes de extinguirse, de su mtDNA a las personas modernas. El logro había precisado de años de duro trabajo para desarrollar técnicas que determinaran de forma fiable secuencias de DNA de individuos muertos hacía tiempo. Ahora que tenía estas técnicas a mi disposición, y un grupo de personas dedicadas capaces y deseosas de intentar cosas nuevas, la pregunta más importante era: ¿a dónde iremos a partir de aquí?

Una de las tareas parecía de inmediata importancia: determinar secuencias de mtDNA de otros neandertales. Al no haber estudiado más que un individuo, seguía siendo posible que otros neandertales portaran genomas mitocondriales muy diferentes de este del valle de Neander, e incluso tuvieran genomas mitocondriales que fueran como los de los humanos actuales. Las secuencias de DNA mitocondrial de más neandertales también revelarían algo sobre la historia genética de los neandertales mismos. Los humanos actuales, por ejemplo, tienen relativamente poca variación genética de mtDNA. Si los neandertales también la tuvieran, sugeriría que se habían originado y expandido a partir de una pequeña población. Si, por otra parte, tenían tanta variación de mtDNA como cualquiera de los grandes simios, suge-

riría que a lo largo de su historia las cifras de su población nunca habían sido muy bajas. No habrían tenido una historia con elevaciones y descensos drásticos de la población como los humanos modernos. Matthias Krings, impaciente por continuar con su éxito con el espécimen tipo icónico del valle de Neander, estaba ansioso por examinar otros especímenes neandertales. El principal problema era acceder a fósiles lo bastante bien conservados como para que nos sirvieran.

Reflexioné mucho para saber por qué habíamos tenido éxito con el espécimen tipo del valle de Neander, y me di cuenta de que el hecho de que procediera de una cueva en piedra caliza podría ser significativo. Tomas Lindahl me había enseñado que las condiciones ácidas provocan que las cadenas de DNA se desintegren, y esa es la razón por la que la gente de la Edad del Bronce encontrada en pantanos en el norte de Europa nunca había albergado DNA. Pero cuando el agua pasa por la piedra caliza se hace algo alcalina. Así que decidí concentrarme en restos neandertales desenterrados de cuevas de piedra caliza.

Por desgracia, nunca había prestado mucha atención a los rasgos geológicos de Europa en la escuela. Pero me acordaba de la primera conferencia sobre antropología a la que había asistido en 1986, en Zagreb, en lo que entonces era Yugoslavia. Durante la conferencia, nos llevaron a excursiones a Krapina y Vindija, dos yacimientos en los que se habían encontrado grandes cantidades de huesos neandertales en cuevas. Investigué sobre lo que había publicado sobre el tema y confirmé que tanto Krapina como Vindija eran cuevas calizas, lo que resultaba prometedor. Prometedora también era la presencia de grandes cantidades de huesos de animales, sobre todo de osos de las cavernas, en las cuevas. Los osos de las cavernas, que eran una especie de grandes herbívoros, se extinguieron hace poco menos de 30 000 años, igual que los neandertales. Es frecuente que sus huesos abunden en cuevas, a menudo en circunstancias que sugieren que murieron

durante la hibernación. Me alegró la presencia de huesos de osos de las cavernas, porque quizá servirían como herramienta adecuada para saber si se conservaba DNA en las cuevas. Si podíamos demostrar que sus huesos contenían DNA, podría ser un buen medio para convencer a los conservadores indecisos de que nos permitieran intentarlo en los restos neandertales mucho más valiosos de la misma cueva. Decidí interesarme por la historia del oso de las cavernas, en concreto en los Balcanes.

Después de una sangrienta guerra con Serbia, Zagreb se había convertido en la capital de la República independiente de Croacia. La mayor colección de neandertales allí proviene de Krapina, al norte de Croacia, donde a partir de 1899 el paleontólogo Dragutin Gorjanović-Kramberger descubrió más de ochocientos huesos de unos setenta y cinco neandertales, el alijo más rico de neandertales jamás hallado. Estos huesos se conservan hoy en el Museo de Historia Natural en el centro medieval de Zagreb. El otro yacimiento, la cueva de Vindija (ver ilustración 6.1[*]) al noroeste de Croacia, fue excavado por otro paleontólogo croata, Mirko Malez, a finales de los setenta y principios de los ochenta. Encontró fragmentos de hueso de varios neandertales, pero no cráneos espectaculares como los hallados en Krapina. Malez también encontró enormes cantidades de huesos de oso de las cavernas. Sus hallazgos también se conservan en Zagreb, en el Instituto de Paleontología y Geología del Cuaternario. Organicé la visita tanto a este Instituto como al Museo de Historia Natural y, en agosto de 1999, llegué a Zagreb.

La colección neandertal de Krapina era muy impresionante, pero me sentía escéptico sobre su potencial para investigar el DNA. Los huesos tenían al menos 120 000 años de antigüedad y por tanto eran los más antiguos que habíamos encontrado para obtener DNA. La colección de Vindija parecía más prometedora. En primer lugar, era más joven. En varias capas de la excavación se habían obtenido restos neandertales, pero la superior, y

por tanto la más reciente, tenía entre 30 000 y 40 000 años de antigüedad, joven en relación con los neandertales. Vi un segundo rasgo emocionante en la colección de Vindija: estaba llena a rebosar de huesos de antiguos osos de las cavernas. Estaban almacenados, según tipo de hueso y capa, en innumerables sacos de papel que se deshacían en la humedad de los sótanos del Instituto del Cuaternario. Había sacos llenos de costillas. Otros llenos de vértebras, otros de huesos largos, y aun otros de huesos de pie. Era una mina de oro de DNA antiguo.

A cargo de la colección de Vindija estaba Maja Paunović, una mujer de cierta edad que pasaba los días en un instituto que no tenía exposiciones públicas y con pocas facilidades para hacer investigación. Era bastante amable, pero comprensiblemente arisca, sin duda consciente de que la ciencia la había adelantado. Pasé tres días con Maja, examinando huesos. Me dio huesos de oso de las cavernas de varias capas de la excavación de Vindija, así como varias muestras de quince de los huesos neandertales. Esto parecía justo lo que necesitábamos para el siguiente paso de nuestra exploración de la variación genética entre los neandertales. Cuando volé de vuelta a Múnich estaba convencido de que haríamos rápidos progresos.

Mientras tanto, Matthias Krings había ampliado su secuenciación del espécimen tipo neandertal a una segunda parte del genoma mitocondrial. Los resultados confirmaron que el DNA mitocondrial de este espécimen compartió un ancestro común con los mtDNA humanos actuales hace medio millón de años. Pero esto era lo que esperábamos, así que la noticia resultó algo aburrida después de la subida emocional provocada por las primeras secuencias neandertales. No es sorprendente que estuviera ansioso por lanzarse sobre las quince muestras de hueso neandertal que había conseguido de Maja en Zagreb.

Primero analizamos su estado de conservación de aminoácidos. Los aminoácidos son los ladrillos de construcción de las

proteínas y pueden analizarse a partir de muestras mucho más pequeñas que las necesarias para la extracción de DNA. Ya habíamos probado antes que si no podíamos encontrar un perfil aminoácido que sugiriera que las muestras contenían colágeno (la principal proteína de los huesos), y si los aminoácidos no estaban presentes en su mayor parte en la forma química en que son construidos en proteínas por las células vivas, nuestras posibilidades de encontrar DNA eran muy pequeñas y no tendría sentido destruir un trozo de hueso mayor en el intento de extraerlo. Siete de los quince huesos parecían prometedores, y entre ellos destacaba sobre todo uno. Enviamos un trozo de ese hueso para la datación por carbono y el resultado mostró que tenía 42 000 años de antigüedad. Matthias hizo cinco extractos de DNA y amplificó los dos segmentos mitocondriales que había estudiado en el espécimen tipo. Funcionó bien. Secuenció cientos de clones, tomándose la molestia de asegurar que cada posición se observaba al menos en dos amplificaciones que, ante mi insistencia, debían proceder de diferentes extractos, para asegurarnos por completo de que eran totalmente independientes el uno del otro.

En marzo de 2000, mientras Matthias seguía trabajando en esto, un artículo que apareció en *Nature* nos pilló por sorpresa. Un grupo con base en el Reino Unido había secuenciado mtDNA de otro neandertal, desenterrado en la cueva de Mezmaiskaya, al norte del Cáucaso[1]. No habían aplicado todos los procedimientos técnicos por los que abogábamos para asegurarse de que la secuencia era correcta; por ejemplo, no habían clonado los productos de la PCR. Sin embargo, la secuencia de DNA que hallaron era casi idéntica a la secuencia de nuestro espécimen tipo del valle de Neander. Matthias, que casi tenía acabadas sus secuencias, se sintió derrotado al publicarse las segundas secuencias mundiales de mtDNA neandertal, sobre todo porque su progreso había sido lento debido a todas las precauciones y comproba-

ciones sobre las cuales yo insistía. Le comprendía, pero también me alegraba de que nuestra secuencia pionera del valle de Neander hubiera sido verificada por un grupo que trabajaba independientemente del nuestro. Pero no acababa de estar de acuerdo con el comentario que publicó *Nature* junto al artículo, que decía que esta segunda secuencia neandertal era «más importante» porque demostraba que la primera era correcta. Atribuí aquello a la amarga frustración de *Nature* por no haber conseguido publicar la primera secuencia neandertal.

Hubo una especie de premio de consolación para Matthias. El segundo DNA neandertal no solo sirvió para confirmar los resultados de nuestro artículo de 1997 publicado en *Cell*, sino que ahora que conocíamos tres secuencias, incluida la que Matthias había determinado de Vindija, podíamos decir algo, aunque fuera provisional, sobre la variación genética entre los neandertales. La teoría genética mantiene que con solo tres secuencias hay un 50% de posibilidad de hacer un muestreo de la rama más profunda de un árbol que relaciona todo el mtDNA de una población. Resultó que el 3,7% de los nucleótidos del segmento que Matthias, y el grupo británico, habían secuenciado era diferente en los tres neandertales. Para aumentar la perspectiva, quisimos comparar este grado de variación con la variación en humanos y grandes simios. Primero, utilizamos datos de secuencia para el mismo segmento determinados por otros muchos grupos procedentes de 5530 humanos de todo el mundo. Para hacer una comparación válida con los tres neandertales, tomamos muestras humanas escogidas al azar muchas veces, para poder calcular una media de cuántas diferencias tienen tres humanos en la misma secuencia. Era un 3,4%, muy similar a la de los tres neandertales. Había 359 secuencias de chimpancé disponibles para el mismo segmento de mtDNA. Cuando tomamos muestras de chimpancés de la misma manera, diferían en una media de 14,8%, y para 28 gorilas el valor correspondiente era de 18,6%. Así que los

neandertales parecían ser diferentes de los grandes simios en que tenían poca variación de mtDNA, exactamente igual que los humanos actuales. Como es obvio, era arriesgado especular solo a partir de tres individuos, y solo a partir de mtDNA, así que cuando publicamos estos datos más tarde en 2000, en *Nature Genetics*, subrayamos que sería deseable analizar más neandertales; sin embargo, sugerimos que era probable que los neandertales fueran semejantes a los humanos modernos en tener poca variación genética y que por tanto se habían extendido a partir de una población pequeña, exactamente como nosotros[2].

CAPÍTULO 7

UN NUEVO HOGAR

La vida no es algo ordenado. Una mañana, poco antes de nuestra publicación de las primeras secuencias de mtDNA neandertal en 1997, mi secretaria me dijo que un anciano profesor había llamado por teléfono pidiendo una cita conmigo. Le había dicho que quería tratar sobre algunos planes de futuro. No tenía ni idea de quién era, pero supuse vagamente que sería un profesor jubilado que quería compartir sus excéntricas ideas sobre la evolución humana conmigo. Estaba muy equivocado. Lo que tenía que decirme era muy emocionante.

Me explicó que venía de parte de la Max Planck Society, abreviado MPS, que apoya la investigación básica en Alemania. Entre sus múltiples proyectos, la MPS tenía un programa para promover la investigación a nivel mundial en la antigua Alemania oriental, que se acababa de fusionar con Alemania occidental unos años antes. Un principio de gestión era encontrar nuevos institutos de investigación que se centraran en temas en los que Alemania fuera científicamente débil. Un área de especial debilidad era la antropología, y por una muy buena razón.

Como muchas instituciones alemanas contemporáneas, la MPS tuvo un predecesor antes de la guerra. Se llamaba Kaiser Wilhelm Society, fundada en 1911. La Kaiser Wilhelm Society había construido y apoyado institutos en torno a eminentes científicos como Otto Hahn, Albert Einstein, Max Planck y Werner Heisenberg, gigantes científicos en activo en una época en que Alemania era una nación dominante en el ámbito científico. Esta era desembocó en un final abrupto cuando Hitler se alzó con el poder y los nazis expulsaron a muchos de los mejores científicos porque eran judíos. Aunque independiente del gobierno, la Kaiser Wilhelm Society se convirtió en parte de la maquinaria de guerra alemana, haciendo, por ejemplo, investiga-

ción armamentística. Esto no resulta sorprendente. Lo peor fue que a través de su Instituto de Antropología, Herencia humana y Eugenesia, la Kaiser Wilhelm Society se vio implicada de forma activa en la ciencia racial y los crímenes que se derivaron de ella. En aquel Instituto, con base en Berlín, gente como Josef Mengele fueron asistentes científicos a la vez que llevaban a cabo experimentos con reclusos del campo de muerte de Auschwitz, muchos de ellos niños. Mientras que Mengele fue sentenciado por sus crímenes después de la guerra (aunque había escapado a Sudamérica), sus superiores en el Instituto de Antropología nunca fueron condenados. Por el contrario, algunos de ellos se convirtieron en profesores de universidad.

Cuando se constituyó la Max Planck Society en 1946 como sucesora de la Kaiser Wilhelm Society, la antropología era, comprensiblemente, un tema que era mejor evitar. De hecho, como resultado de lo que ocurrió bajo el dominio nazi, todo el campo de la antropología había perdido su prestigio en Alemania. Ya no atraía fondos, buenos estudiantes ni investigadores innovadores. Como es obvio, era un área en la que Alemania era científicamente débil, y mi visitante me dijo que la MPS había establecido un comité para considerar si la antropología podía ser un área en la que en MPS debería fundar un nuevo instituto. También indicó que había diferentes opiniones sobre si era una buena idea, dada la historia reciente de Alemania. De todas formas, mi visitante me preguntó si consideraría trasladarme a un instituto de este tipo en el caso de que se creara. Yo sabía algo de que el MPS manejaba grandes recursos, y que estos recursos se habían aumentado para construir varios nuevos institutos en el Este después de la reunificación de los dos estados alemanes. Me intrigaba la perspectiva de ayudar a construir una nueva institución, pero no quise sonar demasiado entusiasta y hacerles creer que iría bajo cualquier circunstancia. Teniendo esto en cuenta, dije que lo consideraría siempre que pudiera influir en cómo se organizaba y

funcionaba ese instituto. El profesor me aseguró que como director fundador tendría una gran libertad e influencia. Sugirió que fuera a presentar al comité mis opiniones sobre cómo habría que organizar un instituto de este tipo.

Algún tiempo después recibí una invitación para realizar una presentación ante el comité. Se reuniría en Heidelberg, y se componía de varios expertos extranjeros, encabezados por *sir* Walter Bodmer, un genetista de Oxford especialista en el sistema inmune. Presenté aquellos aspectos de nuestro trabajo que consideré que podrían ser apropiados para un instituto de antropología, centrándome en el estudio del DNA antiguo, sobre todo de los neandertales, y la reconstrucción de la historia humana a partir de las relaciones genéticas, así como las relaciones lingüísticas entre las poblaciones humanas. Además de mi presentación científica hubo varios debates informales sobre si la antropología era un tema en el que la MPS debería implicarse, dada la nefasta historia del tema en Alemania. Quizá era más fácil para mí, al no ser alemán y haber nacido mucho después de la guerra, tener una actitud relajada hacia esto. Sentía que más de cincuenta años después de la guerra, Alemania no podía permitirse frenar sus esfuerzos científicos por culpa de sus pasados crímenes. No se debe olvidar la historia ni dejar de aprender de ella, pero tampoco hay que tener miedo de avanzar. Creo que dije incluso que cincuenta años después de su muerte, no debería permitirse que Hitler dictara lo que podíamos o no podíamos hacer. Insistí en que en mi opinión cualquier nuevo instituto dedicado a la antropología no debería ser un lugar en el que filosofar sobre la historia humana. Debería hacer ciencia empírica. Los científicos que tuvieran que trabajar allí deberían recoger hechos concretos y reales sobre la historia humana y comprobar sus ideas contra ellos.

Volví a Múnich sin saber cómo había acogido mis ideas el comité y los meses pasaron, hasta que casi me había olvidado de todo el asunto. Entonces, un día recibí una invitación para reunir-

me con un nuevo comité de la MPS al que habían encargado fundar un instituto dedicado a la antropología. Siguieron una serie de reuniones y entrevistas con diferentes candidatos. El hecho de que no hubiera tradición en el tema sobre el que se trabajaba ni en la MPS o ni en Alemania resultó ser algo ventajoso. Nos permitió debatir con libertad, sin ataduras de tradiciones académicas o estructuras preexistentes, sobre cómo se organizaría un instituto moderno para estudiar la historia humana. El concepto que surgió durante nuestras conversaciones fue el de un instituto no estructurado en función de las disciplinas académicas, sino centrado en una cuestión: ¿qué es lo que hace únicos a los humanos? Sería un instituto interdisciplinario donde paleontólogos, lingüistas, primatólogos, psicólogos y genetistas trabajarían juntos sobre esta cuestión. El marco en el que debe hacerse esta pregunta es el de la evolución. En último término, el objetivo debería ser comprender qué es lo que había situado a los humanos en un camino evolutivo tan diferente del de los otros primates. Así que debería ser un instituto de «antropología evolutiva».

Por supuesto, los neandertales como parientes más cercanos extinguidos de los humanos modernos encajarían bien en este concepto. Lo mismo ocurriría con el estudio de nuestros parientes más cercanos vivos, los grandes simios. Y por eso fue invitado a iniciar un departamento en el Instituto el famoso psicólogo americano Mike Tomasello, que trabaja tanto con humanos como con simios, y lo mismo Christophe Boesch, un primatólogo suizo que con su mujer, Hedwige, había pasado muchos años viviendo en la selva en Costa de Marfil para estudiar a chimpancés salvajes. También, Bernard Comrie, un lingüista comparativo, que es británico pero trabajó en Estados Unidos durante varios años, fue invitado a unirse al Instituto. Yo estaba muy impresionado no solo por la calidad de las personas elegidas, sino por el hecho de que todos vinieran de fuera de Alemania. Yo, que había

vivido en Alemania solo siete años, era la más «alemana» de las personas encargadas de iniciar el Instituto. En pocos países europeos podía evitarse que un prejuicio chovinista impidiera que un enorme instituto de investigación, que acabaría empleando a más de cuatrocientas personas, fuera dirigido completamente por personas de fuera del país.

Durante una de las primeras reuniones en Múnich en la que estaban presentes todos los directores de departamentos previstos, sugerí que nos fuéramos los cuatro fuera de la ciudad para relajarnos y estar solos. Así que por la tarde nos embutimos en mi pequeño coche y nos fuimos a Tegernsee, en los Alpes bávaros. Mientras el sol se ponía, subimos al Hirchsbergh, una montaña por la que había caminado y corrido con amigos y estudiantes. La mayoría de nosotros llevábamos un calzado nada apropiado para el ejercicio. Cuando se puso el sol, nos dimos cuenta de que no alcanzaríamos la cumbre. Nos detuvimos en una pequeña colina y disfrutamos del inmaculado paisaje alpino. Sentí que estábamos conectados de verdad unos con otros y que era uno de esos momentos en que la gente tiende a ser sincera. Les pregunté si de verdad iban a venirse a Alemania e iniciar el Instituto, o si estaban negociando con la MPS solo para intentar conseguir recursos de sus actuales instituciones a cambio de no abandonarles, comportamiento no infrecuente entre los académicos de éxito. Todos dijeron que sí vendrían. Una vez que el sol desapareció tras las cumbres de las montañas, descendimos bajo los altos árboles mientras caía la noche. Hablamos con entusiasmo del nuevo Instituto y de lo que podríamos hacer allí. Todos teníamos sólidos programas empíricos de investigación, nos interesaba no solo lo que hacíamos nosotros sino también lo que hacían los demás, y teníamos más o menos la misma edad. Me di cuenta de que este nuevo instituto funcionaría, y que con toda probabilidad sería feliz en él.

Aún había muchas cosas que trabajar con la Max Planck Society y entre nosotros. Una cuestión de importancia era en qué lugar de la antigua Alemania oriental estaría situado el Instituto. La MPS tenía una idea clara. Tenía que estar en Rostock, una pequeña ciudad portuaria hanseática en la costa báltica, y la sociedad tenía una razón convincente para ello. Alemania es un país federal compuesto de dieciséis estados. Cada estado paga a la MPS según el tamaño de su economía. Así que los políticos, obviamente, quieren tantos institutos como sea posible situados en sus estados para «invertir bien su dinero». El estado en el que está situado Rostock, Mecklemburgo-Pomerania Occidental, era el único sin un instituto Max Planck, así que tenía una buena razón para solicitar uno. Podía entenderlo, pero me parecía que nuestra misión era asegurar que el nuevo Instituto tuviera éxito científicamente, no que se mantuviera algún equilibrio político entre estados. Con solo unos doscientos mil habitantes, Rostock era una ciudad pequeña, no tenía aeropuerto internacional, y era desconocida casi por completo fuera de Alemania. Me pareció que sería difícil atraer gente de calidad para que viniera allí. Quería que el nuevo Instituto estuviera en Berlín. Enseguida me di cuenta de que esto no iba a ocurrir. Un gran número de instituciones federales ya se habían trasladado allí desde la antigua República Federal de Alemania. Añadir nuestro Instituto a la lista hubiera sido imposible desde el punto de vista político e incluso difícil en términos prácticos.

La MPS continuaba presionando a favor de Rostock y organizó una visita a la ciudad, donde el alcalde y sus socios explicarían las ventajas del lugar y nos lo mostrarían. Yo estaba firmemente en contra de Rostock y le dije a la MPS que no solo no participaría en la visita, sino que me alegraría de seguir trabajando en la Universidad de Múnich. Hasta ese momento, creía que los funcionarios de la MPS habían pensado que yo solo estaba bromeando con ellos cuando les dije que no me trasladaría a Rosto-

ck. Ahora se dieron cuenta de que, en efecto, no iría si el Instituto estaba en Rostock.

Tuvimos algunas conversaciones sobre posibles localizaciones alternativas. Para mí, tenían buenas perspectivas de futuro dos ciudades del estado meridional de Sajonia, Leipzig y Dresde. Ambas eran bastante grandes y tenían una antigua tradición industrial, así como un gobierno del estado muy dispuesto a continuar con esa tradición. Además, se estaba planeando otro instituto Max Planck para Sajonia, organizado por el brillante biólogo celular de origen finlandés Kai Simons. Había coincidido con él algunas veces como estudiante de grado en los días en los que trabajaba sobre cómo se comportaban las células con las proteínas virales, y estaba seguro de que sería un gran instituto. Mi sueño era tener los dos institutos cerca uno del otro para crear un campus donde fueran posibles las sinergias entre nuestro grupo y su instituto. Por desgracia, la estructura federal de Alemania dio al traste con esta visión. Si ya era difícil argumentar que los dos mayores institutos nuevos que habían de iniciarse en Alemania oriental, el nuestro y el de Kai, estuvieran situados ambos en el estado de Sajonia, que estuvieran los dos en la misma ciudad era casi inimaginable. Como Kai y sus colegas nos llevaban la delantera en su planificación y ya se habían establecido en Dresde, nos centramos en Leipzig. En líneas generales nos gustó lo que vimos.

La ciudad tenía un hermoso centro urbano que había sobrevivido en gran parte a la guerra, un gran escenario cultural con música y arte de primera categoría, y, muy importante, un zoológico que estaba abierto a la posibilidad de cooperar en la construcción de una instalación donde Mike Tomasello pudiera estudiar el desarrollo cognitivo de los grandes simios. También tenía una gran universidad, que es la segunda más antigua de Alemania. Durante nuestras conversaciones con la universidad me fui dando cuenta de que había estado aún más politizada du-

rante la época de la República Democrática Alemana que otras universidades, quizá porque había sido el centro de áreas de estudios tan sensibles como la formación de profesorado y el periodismo. Muchos de los mejores profesores, ya fuera por elección o por necesidad, habían estado muy implicados en el Partido Comunista, y después del colapso de la RDA se habían visto forzados a dejar sus trabajos. Algunos incluso se habían suicidado. Los que habían conseguido conservar sus trabajos eran sobre todo los que habían tenido carreras académicas más oscuras en la RDA. En algunos casos, sus carreras se habían visto truncadas por la persecución política, pero la mayoría de ellos no se habían distinguido por las mismas razones por las que no lo hacen las personas en Occidente —falta de talento, falta de ambición, u otras prioridades en la vida—.

Los puestos dejados vacante por los profesores políticamente comprometidos habían sido ocupados, en su mayoría, por académicos de Alemania occidental. Por desgracia, las mejores personas del oeste no estaban dispuestas a dar el salto para ir al este y enfrentarse a los retos y problemas añadidos que eso conllevaba. Al contrario, los que venían eran a menudo personas que veían esto como una oportunidad para salir de un callejón sin salida profesional. Me di cuenta de lo afortunados que éramos por iniciar una institución desde lo básico, sin la carga de una historia turbulenta. En Dresde, la universidad parecía más dispuesta a asumir el reto de los nuevos tiempos. Pero no podíamos tenerlo todo. Estaba convencido de que al cabo de un tiempo la Universidad de Leipzig desarrollaría la flexibilidad necesaria para avanzar. En el lado positivo, Leipzig era una ciudad muy agradable para vivir, aún más que Dresde. Estaba seguro de que podríamos convencer a la gente para que se trasladara allí. En 1998, nuestro grupo se trasladó temporalmente a un espacio de laboratorio en Leipzig.

Trabajamos duro para hacer que nuestra investigación siguiera avanzando en su nuevo entorno y para planificar un gran edificio para el instituto. Fue una experiencia estimulante. La MPS nos proporcionó amplios recursos, que me permitieron diseñar un laboratorio muy adecuado a nuestras necesidades y a la manera en que pensaba que mi departamento debía funcionar. Esto suponía, por ejemplo, anular las salas cerradas para seminarios. Decidí que la zona donde habían de celebrarse nuestros seminarios de departamento y reuniones de investigación semanales debían estar abiertas al pasillo, para deshacernos de la sensación de que una reunión era un asunto cerrado solo para participantes invitados. Cualquiera que pasara podía escuchar, contribuir a las discusiones y marcharse sin más.

Esperaba atraer a muchas personas de fuera de Alemania al Instituto. Sentía que era muy importante crear un entorno de trabajo donde los científicos y los estudiantes que hubieran venido a Leipzig pudieran desarrollar una vida social y una sensación de comunidad con sus colegas y los estudiantes locales. Para ayudar a hacerlo posible, convencí a los arquitectos de que pusieran zonas en los edificios para *ping-pong*, futbolín, e incluso un muro de escalada de quince metros de alto en el vestíbulo de entrada. Por último, inspirándome en el papel social de la sauna en mi Escandinavia natal, convencí a los sorprendidos arquitectos de que necesitábamos una sauna en la azotea del edificio.

Pero lo más importante fue que pude diseñar por primera vez un cuarto limpio para extracciones de DNA antiguo que siguiera mis especificaciones. Esto suponía, sobre todo, dar rienda suelta a mi paranoia sobre la contaminación con DNA humano adherido a las partículas de polvo. El «cuarto limpio», de hecho, no era una sola sino varias habitaciones. Estarían situadas en el sótano del edificio, para que se pudiera entrar en la instalación limpia sin siquiera acercarse a los laboratorios en los que se manejaba el DNA moderno. En la instalación limpia, primero se entraría en

una habitación donde se vestirían ropas estériles. Después se entraría en una habitación preliminar donde se haría el trabajo que podríamos llamar «sucio», como por ejemplo moler muestras de hueso. De ahí, se entraría en la habitación más interior, donde se llevarían a cabo las extracciones de DNA y las manipulaciones del DNA extraído. Aquí, también, se almacenarían los extractos de DNA válido en congeladores especiales. Todo el trabajo se haría bajo campanas donde el aire estaría filtrado (ver ilustración 7.1[*]). Además, el aire de toda la instalación estaría circulando y filtrándose. Habría de ser absorbido a través de una rejilla en el suelo, y se le retiraría el 99,995% de las partículas mayores de 0,2 milésimas de milímetro antes de volver a la habitación. Se construyeron no una, sino dos instalaciones en el sótano, para que pudieran separarse distintos tipos de trabajo, por ejemplo, sobre animales extintos y sobre neandertales. No se permitiría nunca que pasaran de un cuarto limpio al otro reactivos o instrumentos, para que si alguna vez tuviéramos contaminación en uno de los cuartos, el otro no se viera afectado. Esperaba que estas instalaciones por fin me dejaran dormir tranquilo por la noche.

Por supuesto, el edificio y las instalaciones eran de una importancia secundaria para las personas que trabajarían allí. Busqué líderes de grupo que trabajarían en temas distintos pero relacionados, para que los distintos grupos se ayudaran y se estimularan unos a otros. Un científico que me interesaba mucho atraer a Leipzig era Mark Stoneking. Pero había complicaciones.

Mark había hecho el doctorado en Berkeley con Allan Wilson, y fue allí donde le conocí durante mi periodo posdoctoral. Había trabajado en la variación mitocondrial en humanos y era una de las principales personas tras la teoría de la «Eva mitocondrial», el reconocimiento de que la variación en el genoma mitocondrial humano tuvo su origen en África entre los últimos 100 000 a 200 000 años. En aquel momento Mark había trabajado con Linda Vigilant, una estudiante de grado, utilizando la en-

tonces nueva PCR para secuenciar una parte variable del genoma mitocondrial de gente de África, Europa y Asia. Juntos publicaron un artículo muy influyente en *Science*, que parecía dar en el clavo en la teoría fuera-de-África. Aunque más tarde desafiada por motivos estadísticos, sin embargo sus conclusiones aguantaron la prueba del tiempo. En aquella excitante época de Berkeley, me había llamado la atención el aspecto juvenil de Linda cuando venía al laboratorio en una motocicleta cada día, y su inteligencia. Pero en aquel momento yo estaba emocionalmente ligado a un novio y a mi compromiso con el grupo de apoyo al sida. Así que no me sentí mal cuando Mark se prometió con Linda. Acabaron casándose, se trasladaron a la Penn State University y tuvieron dos niños. Pero mi relación con Linda no había de quedarse ahí.

★ ★ ★

En 1996, seis años después de que yo dejara Berkeley, Mark, Linda y sus dos niños vinieron a Múnich para pasar un año sabático en mi grupo de investigación. Hicimos juntos excursiones por los Alpes, por ejemplo, a mi favorito Hirschberg, y a menudo tomaron prestado mi coche. Linda no trabajaba en el laboratorio, sino que se ocupaba de los niños. Por las noches, algunas veces, se tomaba tiempo libre fuera de la familia y empezamos a ir al cine juntos. Nos llevábamos bien y no había pensado mucho sobre nuestra relación hasta que uno de mis estudiantes de grado dijo en broma que pensaba que yo le gustaba a Linda. Esto me hizo consciente de la tensión entre nosotros, tangible sobre todo en las oscuras salas de cine donde veíamos películas alternativas europeas. Una noche, en un cine no lejos de mi apartamento, nuestras rodillas se rozaron en la oscuridad, quizá por azar. Ninguno de los dos retiró la rodilla. Pronto nos estábamos cogiendo las manos. Y Linda no se fue directamente a casa después de la película.

Yo siempre había pensado que era gay. En la calle, desde luego me fijaba sobre todo en chicos guapos. Pero también me habían atraído las mujeres, en especial las que sabían lo que querían y sabían ser asertivas. Ya antes había tenido relaciones con dos mujeres. Aun así, pensaba que estar con Linda, que estaba casada con un colega y tenía dos hijos, no era una buena idea. Podía ser como mucho algo temporal. Pero a lo largo de las semanas y los meses quedó cada vez más claro que nos entendíamos a muchos niveles, también sexualmente. Sin embargo, cuando Mark y Linda volvieron a la Penn State University después de su año en Múnich, estaba seguro de que mi relación con Linda se acabaría. Pero no fue así.

Justo cuando empecé a debatir con la Max Planck Society sobre el nuevo Instituto, la Penn State se puso en contacto conmigo y me propuso una plaza de profesor con una atractiva dotación. Me sentí en una encrucijada. Me daba cuenta de que quizá no quería vivir en el ambiente serio y rural del State College. Pero también me daba cuenta de que tener una oferta de trabajo seria también podía facilitarme las negociaciones con la MPS. Y también podía estar en juego otra razón no muy clara. No me importaba visitar el State College porque Linda estaba allí. Acabé viajando al Penn State unas cuantas veces, y Linda y yo seguimos viéndonos.

Fue una época difícil. No solo mantenía secretos con respecto a Mark, también tenía secretos comunes con Mark: incluso mientras la Penn State University trataba de contratarme, discutía con Mark la posibilidad de que se viniera al nuevo Instituto de Leipzig. Todo este secreteo y doble juego acabó por ser demasiado para mí. Quizá influido por la doble vida que mi padre había tenido (tuvo dos familias, ninguna de las cuales sabía de la existencia de la otra), siempre me había enorgullecido de ser abierto y no tener secretos en mi vida privada. Sin embargo, aquí estaba, viviendo como poco una versión suavizada de la do-

ble vida de mi padre. Convencí a Linda de que si pretendíamos continuar viéndonos era mejor que le dijera a Mark qué estaba pasando. Lo hizo. Y se produjo la esperada crisis. Pero el hecho de que Linda fuera clara con Mark bastante pronto en nuestra relación supuso que la crisis fuera menos severa que si hubiera sido de otra manera. Con el tiempo, Mark mostró que era capaz de separar su vida privada de sus sentimientos profesionales, y después de un periodo pudo considerar la posibilidad de trasladarse a Leipzig. En términos científicos, era una gran bendición para el instituto. Convencí a la MPS de que le ofreciera una plaza permanente de profesor y se creara un presupuesto para él. En 1998, cuando arrancó nuestro instituto, Mark, Linda y sus dos hijos se trasladaron a Leipzig y Mark transfirió su grupo de investigación a nuestro instituto. Por fortuna, Linda también encontró trabajo en el instituto. Christophe Boesch, que estaba ocupado organizando su departamento de Primatología, estaba preocupado por encontrar a alguien que pudiera manejar un laboratorio genético centrado en los grandes simios. Esto suponía basarse en fuentes extrañas de DNA como heces y pelo dejados por chimpancés y gorilas en la jungla y recogidos por investigadores de campo. Linda había basado una gran parte de su investigación de tesis en Berkeley en la obtención de DNA de cabellos sueltos para el análisis de la variación genética humana. Podía en conciencia recomendársela a Christophe, y Linda acabó dirigiendo el laboratorio de genética del departamento de Primatología.

Nos trasladamos todos a un pequeño edificio de apartamentos que yo había comprado y renovado. Con los años, Linda y yo nos acercamos más y Mark encontró un nuevo amor, mientras la vida cotidiana en nuestra casa siguió sin grandes problemas. En junio de 2004, Linda y yo estábamos de vacaciones en Tegernsee. Una vez más, estábamos bajando del Hirschberg al atardecer. En ese momento empezamos a hablar sobre el hecho de que nuestras vidas estaban avanzando. No teníamos un tiempo ilimi-

tado ante nosotros. De forma inesperada, Linda dijo que si yo quería tener un hijo ella también querría. Yo había jugado con la idea, y había bromeado con ella, pero ahora tenía claro que tenía muchas ganas de tener un niño. En mayo de 2005 nació nuestro hijo Rune.

★ ★ ★

A lo largo de los años que siguieron, nuestras vidas siguieron cambiando, pero a pequeños pasos. Linda y Mark se divorciaron de forma amistosa, y en 2008, Linda y yo nos casamos. El Instituto resultó ser un lugar único con óptimos resultados donde los investigadores, al margen de si procedían de lo que tradicionalmente se consideraba de «humanidades» o de «ciencias», podían trabajar juntos. Se continuó contratando a los mejores de todo el mundo y, en ese sentido, el paleontólogo francés Jean-Jacques Hublin fundó un nuevo departamento. Prueba de lo atractivo que resultaba nuestro Instituto es que dejara pasar un nombramiento casi seguro del Collège de France, una de las más prestigiosas instituciones de Francia, para venir al Instituto de Leipzig. De hecho, en los quince años desde la fundación de nuestro Instituto, grandes universidades de otros lugares, como la de Cambridge del Reino Unido o la de Tubinga en Alemania, han copiado nuestro concepto. A veces me pregunto por qué ha funcionado tan bien. Una razón podría ser que todos éramos nuevos en Alemania y sentíamos que, como habíamos iniciado el instituto juntos, era mejor que nos lleváramos bien entre nosotros y lo hiciéramos funcionar. Otra puede ser que, aun cuando todos estamos interesados en cuestiones semejantes, nuestras áreas de especialidad no se superponen, con lo que hay poca competición directa y rivalidad entre nosotros. Otra más es el generoso apoyo de la MPS, que nos permite evitar la competencia rastrera por los escasos recursos que envenena el ambiente de muchas universidades. Desde luego, todo ha funcionado tan bien que a veces pienso que tendría que volver a la pequeña colina de Hirschberg

cerca de Múnich donde en 1996 los cuatro directores fundadores contemplaron juntos la puesta de sol. Erigiría entonces un pequeño monumento para conmemorar que algo importante sucedió una vez allí. Quizá algún día lo haga.

CAPÍTULO 8

CONTROVERSIAS MULTIRREGIONALES

Mientras estaba ocupado planificando el nuevo Instituto y Matthias Krings trataba de recuperar mtDNA de más neandertales, la comunidad científica había empezado a opinar sobre nuestro análisis del espécimen tipo del valle de Neander. Nuestros resultados no encajaban bien con los promotores del modelo multirregional del origen humano, que preconizaba, entre otras posturas, que los neandertales estaban entre los ancestros de los europeos actuales. No deberían haber estado tan preocupados. En nuestro artículo de 1997, señalábamos cuidadosamente que mientras que el DNA mitocondrial neandertal era muy diferente del mtDNA de cualquier humano actual, los neandertales podrían haber aportado otros genes —genes del genoma nuclear— a los europeos actuales. Quizá la crítica de los multirregionalistas a nuestro trabajo reflejaba una sensación más general de asedio: igual que estábamos demostrando que, al menos en lo que refería al genoma mitocondrial, era de aplicación el modelo fuera-de-África y no el multirregional, otros investigadores estaban descubriendo que los modelos de variación genética en los humanos actuales apoyaban el escenario fuera-de-África más que el escenario multirregional. Por ejemplo, nuestro trabajo tenía buena compañía, estaba en la misma línea del trabajo que Linda Vigilant, Mark Stoneking y otros habían hecho en el laboratorio de Allan Wilson en los ochenta sobre el genoma mitocondrial. Aún más, habíamos empezado a extender su trabajo al genoma nuclear desde que me había trasladado a Alemania. Y los resultados me parecían claros.

Este trabajo sobre el genoma nuclear de las personas actuales lo hizo Henrik Kaessmann, uno de los estudiantes de posgrado con más talento que he conocido nunca. Henrik llegó al labora-

torio en 1997. Era alto, rubio, atlético y muy serio con su trabajo. Pronto me resultó muy agradable correr con él por los Alpes en torno a Múnich, sobre todo Hirschberg arriba. (Esta montaña parecía desempeñar un papel recurrente en mi vida). Después de nuestras carreras extenuantes subiendo por los tortuosos caminos forestales y nuestras bajadas relajadas por ellos, pasábamos tiempo hablando de ciencia, en especial de variación genética entre los humanos. Sabíamos, por el trabajo de Allan Wilson y otros, que la variación del DNA mitocondrial era más pequeña en los humanos que en los grandes simios, lo que sugería que los humanos eran especiales en que se habían expandido a partir de una población pequeña. Pero éramos muy conscientes de que el pequeño tamaño y la simple herencia del mtDNA podría estarnos dando una visión sesgada de la historia genética de humanos y simios. Para cuando Henrik se unió a nuestro laboratorio, nuevas y más rápidas maneras de secuenciar el DNA habían posibilitado estudiar partes del genoma nuclear en las personas actuales igual que nosotros y otros habíamos hecho con el genoma mitocondrial. Henrik quería aceptar este reto y estudiar la variación del DNA nuclear en humanos y simios. Pero ¿en qué parte del genoma nuclear tendría que centrarse?

Comprendemos la función solo de aproximadamente un 10% del genoma nuclear. Estas partes contienen sobre todo genes que codifican proteínas. Estas partes del genoma muestran muy pocas diferencias entre individuos, porque muchas mutaciones son perjudiciales. También, si un gen cambió su función en el pasado de manera que los portadores de una nueva variante sobrevivieran mejor o tuvieran más hijos, el gen pudo expandirse en la población y mostrará patrones de diferencias que reflejen esto. El resto del genoma está mucho menos limitado por la selección natural, tal vez porque estas secuencias no tienen ninguna función esencial que requieran que se conserven secuencias de DNA. Como estábamos interesados en cómo la variación casual

se acumula a lo largo el tiempo evolutivo, era este 90% el que nos interesaba. Escogimos observar una región en particular de 10 000 nucleótidos en el cromosoma X que no contenía genes conocidos u otras secuencias importantes de DNA.

Teniendo claro qué parte del genoma queríamos secuenciar, nos dedicamos a continuación al tema de qué individuos secuenciar. La elección obvia era los varones, porque solo tienen un cromosoma X (mientras que las hembras llevan dos), por lo que la tarea de Henrik sería mucho más sencilla. Pero qué varones secuenciar era una elección mucho más difícil. Otros habían elegido a menudo a las personas a las que tuvieran acceso más fácil. Por ejemplo, muchos estudios genéticos (en general de naturaleza médica) se habían llevado a cabo utilizando muestras de personas de ascendencia europea. Un usuario ingenuo de bases de datos de diversidad genética humana podría por tanto creer que hay más variación genética entre los europeos que en otros grupos. Pero esto puede reflejar tan solo el hecho de que otros grupos no han sido estudiados tanto como los europeos.

Podíamos pensar en tres maneras más sensatas de tomar muestras de la humanidad. En primer lugar, podíamos elegir nuestros varones basándonos en cuántas personas vivían en las diferentes partes del mundo. Sin embargo, esto parecía una mala idea, ya que entonces nuestra muestra la compondrían sobre todo chinos e indios, cuyas grandes poblaciones fueron resultado de los avances durante los pasados 10 000 años como la invención de la agricultura. En resumen, perderíamos gran parte de la diversidad genética mundial. En segundo lugar, podíamos escoger personas según áreas de tierra, tomando una muestra cada dos o tres kilómetros cuadrados. Pero esto, además de plantear formidables retos logísticos, tendría como resultado muestrear en exceso zonas poco pobladas, como el Ártico. La tercera opción, que fue la que adoptamos, era centrarse en los principales grupos lingüísticos. Sosteníamos que los principales grupos lingüísticos (como el in-

doeuropeo, el fino-ugrio, etc.) reflejaban cierta aproximación a la diversidad cultural que viene de hace más de 10 000 años. Así, centrándonos en muestras representativas de los principales grupos lingüísticos, podíamos incrementar nuestras posibilidades de muestrear la mayoría de los grupos que han tenido historias largas e independientes. Por tanto, podíamos esperar cubrir más variación genética humana.

Por fortuna, otros habían llegado a esta idea antes que nosotros, por lo que podíamos basarnos en muestras de DNA recogidas por el distinguido genetista italiano Luca Cavalli-Sforza en la Universidad de Stanford. De estas muestras, Henrik seleccionó sesenta y nueve hombres que representaban todos los principales grupos lingüísticos y secuenció 10 000 nucleótidos de cada uno de ellos. Cuando comparó las secuencias de DNA en pares de hombres escogidos al azar, descubrió una media de solo 3,7 diferencias de nucleótidos. Igual que se vio en el mtDNA, encontró más variación entre pares de individuos de dentro de África que de fuera de África. Para aumentar su perspectiva sobre estos resultados, se dedicó a continuación a los parientes vivos más próximos del hombre: los chimpancés.

Hay dos especies de chimpancés, y ambas viven en África. El chimpancé «común» vive en las selvas y sabanas ecuatoriales en una distribución parcheada que se extiende desde Tanzania, por el este, hasta Guinea, por el oeste, mientras que el bonobo, a veces llamado «chimpancé pigmeo» vive solo al sur del río Congo, en la República Democrática del Congo. Las comparaciones de las secuencias de DNA habían demostrado que las dos especies de chimpancé eran los parientes próximos más cercanos de los humanos, y que nuestros linajes se habían separado quizá hace entre 4 y 7 millones de años. Un poco más atrás, quizá hace entre 7 y 8 millones de años, los humanos y los chimpancés compartían un ancestro con el otro gran simio africano, el gorila. Los orangutanes de Borneo y Sumatra comparten con los otros gran-

des simios y humanos un ancestro que vivió quizá hace 12 a 14 millones de años (ver ilustración 8.1[*]).

Henrik escogió treinta chimpancés machos (de la especie «común», no de los bonobos) representantes de las principales poblaciones de chimpancés en África oriental, central y occidental, y secuenció la misma tira de DNA del cromosoma X que había secuenciado en los humanos. Haciendo de nuevo comparaciones entre pares escogidos al azar, encontró una media de 13,4 diferencias entre dos individuos cualesquiera. Fue, a mi entender, una observación asombrosa. Siete mil millones de humanos sobrepasan con creces el número de chimpancés, que quizá no lleguen a doscientos mil. Y los humanos viven en casi cualquier retazo de tierra que haya en el planeta, mientras que los chimpancés viven solo en África ecuatorial. Aun así dos chimpancés eran portadores de tres a cuatro veces más diferencias genéticas entre sí que dos humanos al azar.

Henrik secuenció a continuación la misma pieza de DNA en bonobos, gorilas y orangutanes para ver si los humanos son demasiado semejantes entre sí o los chimpancés demasiado diferentes. Descubrió que los gorilas y los orangutanes tienen aún más variación que los chimpancés y que solo los bonobos tenían tan poca diferencia como los humanos. Publicamos estos resultados en tres artículos en *Nature, Genetics* y *Science* entre 1999 y 2001[1], demostrando que una región del genoma nuclear tenía un patrón de variación muy semejante al que el grupo de Allan Wilson había descubierto para el mtDNA. Era probable que el mismo patrón fuera típico de todo el genoma humano, y me convencí más que nunca de que el modelo «fuera-de-África» del origen humano era el correcto. Así que escuché la crítica de nuestro trabajo sobre los neandertales por parte de los multirregionalistas, y no me impresionó. Pero sobre todo no les contesté. Estaba convencido de que el tiempo diría quién tenía la razón.

La mayoría de los multirregionalistas eran paleontólogos y arqueólogos. Aunque no me atrevía a decirlo públicamente, en privado no le concedía mucho crédito a su capacidad para contestar preguntas sobre si un grupo antiguo había sustituido a otro, se había mezclado con él o solo había cambiado para convertirse en el otro grupo. En su mayor parte, los paleontólogos ni siquiera se podían poner de acuerdo sobre cómo definir los grupos antiguos que estudiaban. Había, y aún hay, vivas peleas entre «desglosadores» o *splitters*, que ven muchas especies distintas entre los fósiles de homininos, y «agrupadores» o *lumpers*, que ven pocas. Hay otros problemas inherentes a la paleontología. Como estableció el antropólogo Vincent Sarich, que trabajó con Allan Wilson en los años ochenta, sabemos que las personas que viven hoy tenían ancestros porque ellas están aquí, pero cuando vemos un fósil no podemos saber si tuvo descendientes. De hecho, la mayoría de los fósiles que vemos en los museos parecen humanos porque comparten ancestros con nosotros en algún momento del pasado remoto, pero a menudo no tienen descendientes directos hoy y representan ramas «cerradas» de nuestro árbol familiar. Aun así hay una tendencia frecuente a pensar en ellos como «nuestros ancestros». En mis momentos de entusiasmo, imaginaba que la secuenciación del DNA extraído a fósiles acabaría por fin con toda esta incertidumbre.

Uno de nuestros críticos entre los multirregionalistas era el distinguido paleontólogo Erik Trinkaus. Señaló que nuestros resultados serían sesgados si de forma equivocada descartábamos como contaminantes las secuencias de DNA que se parecieran a las de los humanos actuales halladas en huesos neandertales. Argumentaba que de hecho estas podían ser secuencias endógenas, verdaderas neandertales. Es cierto que algunos huesos neandertales habían arrojado *solo* secuencias que parecían modernas. Pero estos eran especímenes con mala conservación, así que estaba seguro de que todo el DNA neandertal endógeno en ellas había

desaparecido y que todo lo que hubiéramos visto serían contaminantes modernos. De todas formas, el argumento de Trinkaus era lógico y me pareció que teníamos que abordarlo directamente.

Esta fue la tarea de David Serre, un estudiante francés de posgrado de Grenoble con una enorme mata de pelo y tendencia a esquiar demasiado deprisa montaña abajo en invierno y en cañones con poderosas cascadas en verano. Decidimos que su estudio, si vivía para llevarlo a cabo, consistiría en investigar si todos los neandertales tenían secuencias de DNA mitocondrial semejantes a la del espécimen tipo, y si los primitivos humanos modernos de Europa, que vivieron en la misma época o algo después que los neandertales, carecían de esas secuencias. Era importante precisar esta última cuestión. Como se ha indicado, la supervivencia de una secuencia de mtDNA en particular en una población está en gran medida influida por el azar. Si los primitivos humanos modernos habían llegado a Europa y se habían mezclado con los neandertales residentes, entonces algunos, o incluso muchos, de ellos pudieron haber llevado secuencias de mtDNA neandertal que pudo haberse perdido en generaciones siguientes si las hembras portadoras de ellas no tuvieron hijas. De hecho, poco después de que apareciera nuestro artículo de 1997 en *Cell*, Magnus Nordborg, un biólogo teórico sueco que trabajaba en Estados Unidos, había señalado esta situación.

Esta crítica me molestó, porque confundía dos preguntas distintas. La primera pregunta era si los neandertales aportaron a los humanos modernos DNA mitocondrial que se conserve en personas vivas actuales. Habíamos contestado a esta pregunta negativamente. La segunda pregunta era si los neandertales y los humanos modernos se habían cruzado. Esta pregunta no la habíamos contestado. Sin embargo, me pareció que la primera pregunta era a la vez más interesante y más importante. Quería saber si yo, o cualquiera que anduviera hoy por ahí, éramos porta-

dores de DNA de los neandertales en nuestros cuerpos. Si no habíamos heredado DNA de los neandertales, cualquier cruce de hace 30 000 años no había tenido consecuencias desde una perspectiva genética. Siempre que hablaba con periodistas, trataba de señalarlo. Para dejarlo claro, dije que no estaba nada interesado en las prácticas sexuales durante el Pleistoceno tardío a menos que estas prácticas hubieran dejado algún rastro en nuestros genes de hoy. A veces añadía que me sorprendería mucho que los modernos humanos no hubieran tenido sexo con los neandertales si se hubieran encontrado. Pero lo que importaba era si habían tenido hijos que vivieran para transmitirnos sus genes.

A pesar de mi fastidio por esta confusión de temas, quería que David investigara si los modernos humanos europeos podrían haber sido portadores de un mtDNA neandertal que se perdiera con posterioridad. Si en algún momento tuvieron ese mtDNA, habrían tenido también DNA nuclear de los neandertales. En ese caso, sería razonable suponer que algunas partes del DNA nuclear neandertal podrían permanecer en personas actuales.

Escribimos a varios museos de toda Europa para conseguir huesos de neandertales y de primitivos humanos modernos. Después de nuestro éxito con el espécimen tipo neandertal, resultaba más fácil convencer a los conservadores de que nos permitieran sacar muestras de sus colecciones, y acabamos con trocitos de huesos de veinticuatro neandertales y cuarenta humanos modernos primitivos. David analizó los aminoácidos de la totalidad de las sesenta y cuatro muestras. Solo cuatro muestras de neandertales y cinco de primitivos humanos modernos estaban bastante bien conservadas como para sugerir la presencia de DNA, una proporción escasa, pero típica. Extrajo DNA de estos nueve huesos e intentó hacer PCR utilizando cebadores que pudieran amplificar DNA mitocondrial tanto de los grandes simios como de los neandertales y humanos. David consiguió productos de amplificación de las nueve muestras. Cuando estuvieron

secuenciadas, sucedió que eran similares o idénticas a las encontradas en personas actuales. Estos resultados eran alarmantes. Después de todo, quizá Trinkaus tuviera razón.

Pedí a David que hiciera de nuevo el experimento, esta vez incluyendo muestras de cinco osos de las cavernas de Vindija y uno de Austria. Cuando amplificó estas, ¡también arrojaron secuencias humanas! Esto fortaleció mi sospecha de que estábamos obteniendo simplemente secuencias de DNA contaminante de modernos humanos que habían manejado estos huesos. Entonces David diseñó cuidosamente cebadores que amplificaran mtDNA de tipo neandertal pero no mtDNA de humanos actuales. Después de usar mezclas de DNA en el laboratorio para comprobar si esos cebadores eran efectivamente específicos para el mtDNA neandertal, los probó con los osos de las cavernas. No pudo amplificar nada. Esto era reconfortante. Los cebadores eran específicos para el mtDNA neandertal. Entonces utilizó estos cebadores sobre los extractos de huesos neandertales y humanos modernos. Ahora todos los huesos neandertales ofrecieron secuencias de mtDNA similares a las del espécimen tipo neandertal, lo que sugería una vez más que los neandertales no tenían mtDNA similares a los de los humanos actuales. Por el contrario, ninguno de los cinco humanos modernos primitivos arrojó ningún producto, lo cual sugería que Trinkaus se equivocaba.

A continuación volvimos a la teoría para explorar mejor este tema. Diseñamos un modelo de población en el que supusimos que los neandertales se cruzaron con los humanos anatómicamente modernos hace 30 000 años y que estos modernos humanos tuvieron descendientes que viven hoy. Nos preguntamos entonces cuál podía ser la mayor aportación genética a los humanos actuales, dados nuestros hallazgos de que ningún humano actual ni cinco primitivos humanos modernos de hace unos 30 000 años tenían nada de mtDNA neandertal. Según este modelo (que hicimos manejable utilizando suposiciones simplifica-

doras, como el no incorporar el crecimiento de la población humana moderna), los neandertales no pudieron haber aportado más del 25% al genoma nuclear de las personas que viven hoy en día. Sin embargo, como no veíamos pruebas directas de contribución genética de los neandertales, pensé que la hipótesis más razonable, a menos que nuevos datos mostraran algo diferente, era que los neandertales no habían hecho ninguna aportación genética a las personas vivas de hoy en día.

Pensé que este resultado ilustraba muy bien la fuerza de nuestro estudio en comparación con un análisis paleontológico típico. Utilizamos suposiciones definidas con claridad y sacamos conclusiones que estaban limitadas por las probabilidades. No se podría hacer ninguna investigación rigurosa utilizando rasgos morfológicos de los huesos. A muchos paleontólogos les gustaba describir lo que hacían como ciencia rigurosa, pero el mismo hecho de haber sido incapaces de ponerse de acuerdo sobre la concurrencia de una aportación genética de los neandertales a los humanos modernos a pesar de al menos dos décadas de debate, ilustraba que su investigación tenía grandes limitaciones.

Después de publicar los resultados de David[2], un grupo teórico de Suiza, dirigido por el genetista poblacional Laurent Excoffier, desarrolló un modelo mucho más plausible que el nuestro sobre cómo pudieron interactuar los neandertales y los humanos modernos. Supusieron que cuando los humanos anatómicamente modernos se desplazaron por Europa, habría tenido lugar algún cruce con los neandertales en las zonas del frente de avance humano moderno. Esta invasión inicial se habría caracterizado por poblaciones pequeñas de humanos modernos que, a partir de ahí, habrían crecido de tamaño. El grupo suizo demostró que con este modelo es probable que incluso raros casos de cruce habrían dejado rastros en el acervo genético mitocondrial actual, porque de media las mujeres en una población en crecimiento tienen múltiples hijas que transmitirán el mtDNA de sus

madres. Así que en estas circunstancias, cualquier mtDNA neandertal que hubiera acabado en la población humana moderna correría menos riesgo de perderse que si esta población fuera de tamaño constante. Puesto que no habíamos visto mtDNA neandertal ni en ninguno de los cinco primitivos humanos modernos ni en los miles de humanos vivos que nosotros y otros habíamos estudiado, el grupo de Excoffier concluyó que nuestros datos sugerían «una casi completa esterilidad entre las hembras neandertales y los machos humanos modernos, lo cual implica que las dos poblaciones podrían ser especies biológicas distintas»[3].

No tenía nada en contra de esta conclusión del grupo suizo, pero por supuesto aún era posible que algo especial, no captado por su modelo, hubiera ocurrido cuando se encontraron los neandertales y los humanos. Por ejemplo, si todos los hijos de los ancestros mezcla de neandertal-humano moderno hubieran acabado en comunidades neandertales, no habrían contribuido a nuestro acervo genético y el resultado parecería de «casi completa esterilidad», como lo había descrito este grupo. También, si todas las situaciones de cruce implicaban a varones neandertales y hembras humanas modernas, no serían detectables en el acervo genético del mtDNA actual, ya que los varones no aportan DNA mitocondrial a sus hijos. Estas mezclas solo se verían en el genoma nuclear. Para entender plenamente cómo pudieron impactar en nuestros genomas las interacciones entre nuestros ancestros y los neandertales, estaba claro que necesitábamos estudiar el genoma nuclear neandertal.

CAPÍTULO 9

TEST NUCLEARES

El trabajo de Henrik sobre el cromosoma X había mostrado que las pautas de semejanzas y diferencias vistas en el DNA mitocondrial de los humanos y simios eran extensibles al menos a una parte del genoma nuclear. No estaba nada claro que algún día pudiéramos estudiar el DNA nuclear de los neandertales o si estaríamos limitados para siempre a su genoma mitocondrial. En mis momentos más oscuros, pensaba que íbamos a quedarnos atascados en la visión borrosa y parcial de la historia humana que daba el mtDNA. Desde luego, si se ignoraba los resultados de animales y plantas incrustados en ámbar, de los dinosaurios y de otros fantasiosos estudios «antediluvianos» (lo cual hice), nadie había conseguido todavía recuperar DNA nuclear de restos antiguos. Pero en mis momentos más lúcidos sentía que debíamos intentarlo.

Fue entonces cuando Alex Greenwood, un nuevo posdoctorando, diminuto pero resuelto, de Estados Unidos, llegó al laboratorio. Le conté nuestras esperanzas de recuperar DNA nuclear de los neandertales, señalando que era un proyecto de alto riesgo pero también muy importante. Se mostró ansioso por aceptar el reto.

Sugerí un método de «fuerza bruta». Mi plan era analizar muestras de muchos huesos para hallar los que tuvieran más mtDNA y entonces extraer DNA de las muestras más grandes para intentar recuperar cualquier DNA nuclear. Este método suponía que no podíamos llevar a cabo nuestros experimentos iniciales con esta técnica incierta en los restos neandertales; eran demasiado escasos y valiosos para usarlos cuando el riesgo de fracaso era tan alto. En su lugar, recurrimos a huesos de animales, que eran a la vez mucho más abundantes y menos valiosos para los paleontólogos. Los huesos de osos de las cavernas que había

traído del oscuro sótano del Instituto del Cuaternario de Zagreb ahora venían bien. Se habían encontrado en la cueva de Vindija, una cueva de caliza en la que también se habían encontrado algunos restos neandertales que contenían mtDNA. Así que, si podíamos recuperar DNA nuclear de los osos de las cavernas, podíamos esperar hacer lo mismo con los neandertales.

Alex empezó extrayendo DNA de los huesos de los osos de las cavernas croatas, que tenían entre 30 000 y 40 000 años de antigüedad, y comprobó si contenían algún mtDNA parecido al del oso. Muchos de ellos lo tenían. Entonces tomó las muestras que parecían contener la mayor cantidad de mtDNA e intentó amplificar breves fragmentos de DNA nuclear. Esto falló. Estaba frustrado, y yo estaba desanimado, pero no sorprendido. El problema con el que se enfrentaba me resultaba familiar: como cada célula de un animal vivo contiene cientos de genomas mitocondriales pero solo dos genomas nucleares, cualquier fragmento de DNA nuclear estaba presente entre cien y mil veces menos en los extractos que cualquier fragmento en especial de DNA mitocondrial. Así que incluso si había presencia de algún DNA nuclear en cantidades diminutas, las posibilidades de amplificarlo eran cien o mil veces más bajas.

Una manera obvia de vencer este problema era simplemente utilizar más hueso. Alex extrajo cantidades aún mayores de hueso de oso de las cavernas e intentó amplificar trozos aún más cortos de DNA nuclear usando cebadores que flanqueaban nucleótidos en los que se sabía que los osos diferían de los humanos. Esto le permitiría distinguir entre DNA de oso antiguo y DNA humano contaminante. Pero en estos megaextractos, no se podía amplificar *nada* —ni siquiera DNA mitocondrial de oso—. No consiguió ningún producto en absoluto.

Después de varias semanas de fracasos repetidos con múltiples huesos, nos dimos cuenta de que era imposible hacer extractos útiles de DNA de estas cantidades tan grandes de material óseo.

No era debido a que los huesos no contuvieran material que amplificar, sino a que los extractos contenían algo que inhibía la enzima usada para la PCR; se hacía inactiva y no tenía lugar ninguna amplificación. Luchamos por limpiar el inhibidor desconocido del DNA del extracto, pero fracasamos. Ralentizamos la extracción en pequeños pasos hasta que empezaron a funcionar de nuevo para la amplificación del mtDNA. Entonces, en esa dosificación, intentamos la amplificación nuclear. Siempre fallaba. Intenté mantenerme a flote, pero a medida que pasaban los meses Alex se sentía cada vez más frustrado y ansioso sobre si alcanzaría alguna vez un resultado que justificara un artículo científico. Empezamos a preguntarnos si después de la muerte de un oso el DNA nuclear sería degradado por enzimas que se filtrarían a través de la membrana nuclear de las células en descomposición. Quizá el DNA en las mitocondrias, al tener una doble membrana, habría estado mejor protegido, haciendo más probable que el mtDNA sobreviviera hasta que el tejido se secara, se helara o fuera protegido de otra manera del ataque enzimático. Esta posibilidad hizo que me preguntara si habría alguna posibilidad de encontrar DNA nuclear en huesos antiguos, incluso aunque pudiéramos superar la inhibición de la PCR. Poco a poco, me iba sintiendo tan frustrado como Alex.

Desalentados por los osos de las cavernas y preguntándonos si las condiciones de la cueva podían sencillamente haber sido demasiado desfavorables como para conservar DNA nuclear, decidimos centrarnos en el material que esperábamos que mostrara la mejor conservación, los restos en permafrost (capa de hielo permanente) de mamuts de Siberia y Alaska. Habían estado congelados desde que los animales murieron y la congelación, por supuesto, habría ralentizado e incluso detenido tanto el crecimiento bacteriano como muchas reacciones químicas, incluidas las que degradan el DNA al cabo del tiempo. También sabíamos, por el trabajo de Matthias Höss, que los mamuts del permafrost

siberiano solían contener grandes cantidades de mtDNA. Por supuesto, nunca se habían encontrado neandertales en el permafrost, por lo que centrarnos en los mamuts suponía separarnos un paso de nuestra meta última. Pero necesitábamos saber si el DNA nuclear podía sobrevivir a decenas de miles de años. Si no encontrábamos DNA nuclear en los restos helados de mamuts, podíamos olvidarnos de encontrarlo en huesos neandertales conservados en condiciones mucho menos ideales.

Por fortuna, yo había coleccionado huesos antiguos de diferentes museos a lo largo de los últimos años, por lo que Alex pudo probar de inmediato restos de varios mamuts. Encontró un diente de mamut que contenía cantidades particularmente grandes de mtDNA. Se había extraído del suelo helado cuando la autopista de Alaska, que iba desde la Columbia Británica nororiental hasta cerca de Fairbanks, se construyó con gran celeridad durante la Segunda Guerra Mundial, y se había almacenado desde entonces en una caja enorme en el Museo americano de Historia Natural. Para facilitar un poco la búsqueda de DNA, nos concentramos sobre todo en un segmento del genoma nuclear que contenía parte del gen conocido como 28S rDNA, que codifica una molécula de RNA que es parte del ribosoma, una estructura que sintetiza proteínas en las células. Para nuestros propósitos, este gen tenía la gran ventaja de existir en varios centenares por célula. Así, tendría que haber sido más o menos tan abundante como el DNA mitocondrial de los extractos, suponiendo que el DNA nuclear no se habría degradado más que el DNA mitocondrial tras la muerte. Para mi deleite y profundo alivio, Alex pudo amplificar el gen ribosómico. Secuenció clones de los productos de la PCR de mamut y reconstruyó la secuencia del gen utilizando el estudio de los segmentos superpuestos que habíamos establecido cuando estudiamos el mtDNA neandertal. Después quería comparar la secuencia con las de los elefantes africano y asiático, los parientes más cercanos vivos de los mamuts. Yo ha-

bía estado tan paranoico con la contaminación que, hasta que Alex no tuvo los resultados de mamut, le había prohibido a él y a cualquier otra persona que trabajara con elefantes. Pero ahora, trabajando fuera de nuestro cuarto limpio, Alex utilizó los mismos cebadores que había utilizado para el trabajo del mamut para amplificar y secuenciar el fragmento de 28S rDNA de un elefante africano y un elefante asiático. Las secuencias de mamut eran idénticas a las del elefante asiático, pero diferían en dos posiciones de las de la versión africana del elefante, lo que sugería que los mamuts estaban más estrechamente relacionados con los elefantes asiáticos que con los africanos. Pero el objetivo de este ejercicio no había sido comparar mamuts con elefantes sino encontrar DNA nuclear antiguo. Para rematarlo, enviamos una pequeña muestra del diente a datar con carbono. Cuando llegó la fecha de 14 000 años de antigüedad, me sentí satisfecho por primera vez en meses. Ahora ya era oficial. Estas eran las primeras secuencias de DNA nuclear que se habían determinado nunca procedentes del Pleistoceno tardío.

Animado por estos resultados, Alex diseñó cebadores para amplificar dos breves piezas de un fragmento del gen factor de Von Willebrand, del que solo existe una copia en el genoma del elefante. Este gen, abreviado vWF, codifica una proteína de la sangre que ayuda a que las plaquetas se adhieran a los vasos sanguíneos heridos. Nos centramos en él porque otros ya lo habían secuenciado en elefantes (y muchos otros mamíferos disponibles). Así que si lográbamos determinar una secuencia en el mamut, podríamos compararla directamente con estas secuencias de la actualidad. Casi no me lo podía creer cuando, durante nuestra reunión semanal del laboratorio, Alex mostró imágenes de bandas en un gel que sugerían que había podido amplificar estos fragmentos de gen en el mamut. Repitió el experimento dos veces, utilizando un extracto preparado diferente del mismo hueso de mamut. Entre los muchos clones que secuenció, vio errores

en moléculas individuales, que podían provenir de daños químicos en el viejo DNA, o bien de la adición de polimerasa del DNA del nucleótido equivocado durante los ciclos de la PCR (ver ilustración 9.1[*]). Sin embargo, en una posición concreta, vio un patrón interesante. Había secuenciado un total de treinta clones a partir de tres amplificaciones de la PCR independientes. En una posición concreta, quince de esos clones llevaban una C, catorce llevaban una T y una llevaba una A. Supusimos que la única A era un error causado por la DNA polimerasa, pero las otras representaban algo que hizo que mi corazón latiera más deprisa. Era evidente que este punto en particular de la secuencia era lo que los genetistas llaman una posición heterocigótica, o un polimorfismo de nucleótido único (abreviado SNP, en inglés *single nucleotide polymorphism*), un lugar en el que las dos copias del gen que este mamut había recibido de su madre y de su padre diferían. Lo que veíamos era la primera posición heterocigótica o SNP que provenía de la Edad de Hielo. Esto era, si se quiere, la esencia de la genética, un gen nuclear que tiene dos variantes en una población. Las cosas iban mejorando. Si pudiéramos ver ambas versiones de este gen de mamut, entonces todas las partes del genoma deberían ser potencialmente accesibles. Debería ser posible, al menos en teoría, recuperar así cualquier información genética que quisiéramos de una especie que se extinguió hace muchos miles de años. Para afianzar este punto, Alex amplificó piezas de otros dos genes de copia única: uno que codifica una proteína que regula la liberación de neurotransmisores en el cerebro, y uno que codifica una proteína que se enlaza con la vitamina A y es producida por los bastones y conos del ojo. Tuvo éxito en ambos casos.

Como habíamos luchado tanto para recuperar DNA nuclear, los resultados del mamut de Alex fueron muy bien recibidos y durante varios días estuve muy contento. Pero a mí no me interesaban tanto los mamuts. Me interesaban los neandertales, y era

muy consciente de que no había neandertales en el permafrost. Urgí a Alex para que retrocediera y volviera a probar con los restos de oso de las cavernas de Vindija, para ver si podía recuperar DNA nuclear de restos que no estuvieran congelados. Analizó DNA mitocondrial de varios osos de las cavernas croatas e identificó un hueso que parecía contener una gran cantidad. Lo datamos con carbono y encontramos que tenía 33 000 años de antigüedad y era, por tanto, casi contemporáneo de los neandertales. Alex se concentró en este hueso. Intentó el gen de RNA ribosómico que aparece en muchas copias en el genoma. Obtuvo pequeñas cantidades de un producto de amplificación. Reconstruyendo su secuencia a partir de clones, descubrió que la secuencia era totalmente idéntica a la de los osos actuales.

Fue un éxito, pero con un lado oscuro. Era tan difícil amplificar este fragmento de gen de múltiples copias que cualquier intento de conseguir genes de una sola copia como el gen vWF que estudió en el mamut parecía condenado al fracaso. De todas formas, Alex lo intentó, desde luego, pero como era de esperar fracasó. Así, después de toda la emoción con los resultados del mamut, yo estaba, en secreto, muy defraudado por estos experimentos. Habíamos demostrado que el DNA nuclear podía sobrevivir durante miles de años en el permafrost, pero solo podían encontrarse rastros de secuencias de DNA muy comunes en los huesos de los osos de las cavernas. Había una enorme diferencia entre el permafrost y las cuevas de caliza.

En 1999 publicamos los hallazgos de Alex en lo que consideré que era un artículo estupendo, aunque después fue en gran medida pasado por alto[1]. Demostraba que el DNA nuclear sobrevive en restos encontrados en permafrost y que incluso pueden determinarse posiciones heterocigóticas, en las que los dos cromosomas de un individuo difieren en la secuencia de DNA. Éramos optimistas sobre las perspectivas de la investigación genética en el permafrost, y señalamos al final del artículo que:

Existe una plétora de restos de fauna en depósitos del permafrost y otros entornos fríos. El hecho de que estos restos pueden arrojar no solo mtDNA sino también secuencias de DNA nuclear de una sola copia en un número sustancial de casos abre las posibilidades de utilización de loci nucleares en estudios de filogenética y de genética de población y de estudiar genes que determinan rasgos fenotípicos.

Con el tiempo, otros continuarían esta línea de investigación, aunque no en los siguientes cinco a diez años. Peor aún, a menos que se descubriera un neandertal en el permafrost, parecía que nunca podríamos ver el genoma completo de un neandertal.

CAPÍTULO 10

HACIA LO NUCLEAR

En el laboratorio, me dediqué a supervisar los experimentos que hacían avanzar el trabajo despacio, pero con seguridad. Pero cada vez que me encontraba en un pequeño asiento durante un largo viaje de avión, o en la oscuridad de una sala de conferencias durante una presentación en apariencia irrelevante en un congreso, volvía a mi mayor frustración: nuestra incapacidad para recuperar DNA nuclear de los neandertales. Sentía que *debía* estar ahí, aun cuando la PCR no pudiera recuperarlo. Tan solo teníamos que encontrar un método mejor para obtenerlo.

Hendrik Poinar realizó un nuevo intento en esta dirección. Agotado por su infructuosa búsqueda de DNA de fauna y flora incrustada en ámbar hace millones de años, había decidido dedicarse a tareas más prometedoras. Por suerte para nosotros, yo había asistido a alguna de esas conferencias aburridas en las que había tenido tiempo para reflexionar sobre el trabajo que habíamos hecho para recuperar DNA de excrementos animales. Uno de los que habíamos estudiado era el perezoso de tierra americano ya extinguido, un animal de la Edad del Hielo. Los perezosos gigantes habían dejado tras ellos grandes cantidades de excrementos, que los arqueólogos disfrazaban con el fantástico nombre de coprolitos. De hecho, en cuevas de algunos lugares como Nevada, todo el suelo, hasta cierta profundidad, se compone en gran parte de viejas heces de perezoso de tierra. En un artículo publicado en *Science* en 1998, Hendrik ya había mostrado que el DNA mitocondrial se conservaba en este tipo de material, y nosotros describimos la recuperación de DNA de plantas a partir de un único bolo de perezoso, mostrando cómo se podía usar para reconstruir los ingredientes de la comida que el perezoso había ingerido poco antes de su muerte hacía 20 000 años[1]. Este logro sugería que se conservaban grandes cantidades de DNA, incluso

de DNA nuclear, en antiguos restos fecales. Propuse que Hendrik intentara encontrarlo.

Hendrik había empezado su búsqueda con un truco químico que habíamos desarrollado un año antes. En 1985, cuando yo estaba analizando las momias de Berlín, había observado que casi todos los extractos contenían un componente que producía fluorescencia azul a la luz ultravioleta, y que si un extracto tenía fluorescencia azul nunca proporcionaba DNA. No sabía cuál era este componente, pero me acuerdo con dolor de la decepción que sentí cuando vi el brillo azul en lugar del rosa que estaba esperando. A medida que aprendí más del proceso químico que podía darse en los tejidos muertos a lo largo de miles de años, me encontré con el fenómeno conocido como reacción de Maillard, una reacción química muy estudiada por la industria de la alimentación. Como mi madre era química de la alimentación, me envió muchas publicaciones al respecto. La reacción Maillard se da cuando se calientan formas comunes de azúcar o se conservan a temperaturas no demasiado calientes durante mucho tiempo. Entonces, forman vínculos químicos cruzados con grupos aminos que se encuentran en las proteínas y el DNA, dando como resultado grandes y complicados complejos moleculares. La reacción de Maillard se da en muchas formas de cocción, y el olor y el color agradables del pan recién horneado son productos laterales de la reacción de Maillard. Pero lo más interesante para mí era que los productos de Maillard desprendían una fluorescencia azul con luz ultravioleta. Pensé que esto era lo que podía haber estado pasando con las momias egipcias. Asocié esta reacción no solo a la fluorescencia azul de los extractos de las momias sino también (quizá de forma errónea) a su color marrón y su olor característico, que es dulce y no desagradable. Y me pregunté si la razón por la que no había podido extraer DNA de ellas era que la reacción de Maillard lo ligaba a otras moléculas.

Había una manera de averiguarlo. En 1996, un artículo de *Nature* describía un reactivo químico —bromuro de N-fenaciltiazolio, en abreviado PTB— que podía romper los complejos formados por la reacción de Maillard[2]. El PTB, cuando se añade al pan horneado, lo convierte de nuevo en masa (aunque una masa que es probable que nadie se sentiría tentado de volver a meter en el horno). Como el PTB no podía comprarse comercialmente, Hendrik lo sintetizó en el laboratorio. Cuando añadimos PTB a los extractos de muestras antiguas de osos de las cavernas y neandertales, a veces se daban, en efecto, mejores amplificaciones. Y cuando Hendrik añadió PTB a extractos de los coprolitos de 20 000 años de antigüedad de Nevada, pudo amplificar fragmentos del gen vWF que Alex había secuenciado de forma parcial de mamuts, así como de fragmentos de otros dos genes nucleares, todo ello para mi gran sorpresa. Publicamos este trabajo en julio de 2003[3], demostrando por fin que el genoma nuclear podía conservarse incluso cuando los restos no estuvieran congelados.

Animado por estos resultados, me pareció que sobraban motivos para insistir en nuestros intentos de recuperar DNA nuclear de los huesos de los osos de las cavernas, de nuevo con el PTB. Pero, por desgracia, esta vez el truco químico no ayudó. De hecho, resultó que los coprolitos de Nevada eran una rara excepción en la que el PTB podía convertir el fracaso en éxito. Sin embargo, los coprolitos sí confirmaron mi sensación de que el DNA nuclear estaba ahí, y que sencillamente necesitábamos técnicas nuevas para encontrarlo.

Para conseguir información sobre nuevas técnicas me dediqué a consultar con cuanta gente me fue posible sobre maneras de secuenciar pequeñas cantidades de DNA. Una de las personas sometidas a mi interrogatorio fue el bioquímico sueco Mathias Uhlén, un creativo inventor y empresario biotecnológico. Mathias combina una energía en apariencia ilimitada y un entusias-

mo juvenil por las nuevas ideas con la habilidad de aglutinar en torno suyo a personas creativas y transmitirles su entusiasmo. Siempre me sentí lleno de energía después de mis encuentros con él. Una de las numerosas personas creativas del entorno de Mathias era Pål Nyrén. Diez años antes, había concebido una nueva técnica para secuenciar DNA que había desarrollado a pesar del escepticismo general. Mathias se había dado cuenta del potencial de la idea de Pål. También vio que era hora de pensar en nuevas maneras de secuenciar DNA: todavía estábamos utilizando el sistema inventado por Fred Sanger en el Reino Unido, el cual, en 1980, le había supuesto su segundo Premio Nobel de Química.

El método de secuenciación de Sanger se basa en la incorporación secuencial de los cuatro nucleótidos por una DNA polimerasa, enzima que fabrica nuevas hebras de DNA utilizando otras viejas como plantillas. En esta reacción de secuenciación, la DNA polimerasa inicia su síntesis de hebras de DNA a partir de un cebador en un punto determinado del DNA. Una pequeña parte de cada uno de los cuatro nucleótidos se marcan con diferentes tintes fluorescentes y se modifican químicamente, de manera que cuando la DNA polimerasa las incorpora, la síntesis se detiene. Este procedimiento crea hebras de diferentes longitudes, cada una con el tinte en su extremo que indica qué nucleótido está situado ahí. Los fragmentos así determinados y marcados pueden separarse por electroforesis en un gel según su tamaño. Esto revela qué tinte y por tanto qué nucleótido está presente, por ejemplo, a diez posiciones de donde empezó la síntesis, a once posiciones, a doce posiciones, etc. Las mejores máquinas empleadas para secuenciar DNA —por ejemplo, la del Proyecto del Genoma Humano— pueden secuenciar casi cien piezas de DNA a la vez, para cadenas de hasta 800 nucleótidos de longitud. Lo que Pål desarrolló en el laboratorio de Mathias fue un método llamado pirosecuenciación. Aunque estaba en pañales, este mé-

todo era en potencia mucho más rápido y sencillo que la secuenciación de Sanger.

La pirosecuenciación también utiliza una DNA polimerasa para construir secuencias de DNA, pero detecta cada nucleótido incorporado al DNA no por una engorrosa separación de fragmentos según el tamaño, sino por un destello de luz emitido después de que cada nucleótido se incorpora a la cadena de DNA. El truco que Pål había diseñado era añadir solo uno de los cuatro nucleótidos cada vez a la mezcla de reacción. Por ejemplo, si se añade un A (adenina), y la cadena que se está usando como molde en ese punto lleva un T (timina, que se empareja con la adenina), la DNA polimerasa incorpora el A a la cadena en crecimiento, y un sistema enzimático en la reacción provoca que se genere una señal luminosa. Este destello luminoso es detectado por una potente cámara y registrado por un ordenador. Si la cadena molde no lleva un T sino otra base, no se genera el destello luminoso. Pål añadió cada uno de los cuatro nucleótidos de manera consecutiva, ciclo tras ciclo. Al observar los destellos luminosos, pudo leer el orden de los nucleótidos en un fragmento de DNA. Era un método brillante, que se basaba solo en bombear los nucleótidos y otros reactivos a una cámara de reacción y sacar fotos con una cámara. Aún más importante es que podía automatizarse con facilidad. Cuando Mathias me habló de ello, me entusiasmé tanto como lo estaba él.

Un poco más tarde, Mathias me pidió que entrara en el comité científico asesor de una empresa llamada Pyrosequencing, que Pål y él habían fundado para crear un instrumento comercial que llevara a cabo esta nueva técnica. Acepté con alegría, porque hacerlo me permitiría estar en contacto con el desarrollo de una emocionante tecnología que yo había considerado que podía transformar la forma en que estudiábamos el DNA antiguo. Me uní al comité asesor en 2000, un año después de que la empresa hubiera creado su primer instrumento comercial, que podía se-

cuenciar de forma simultánea noventa y seis fragmentos de DNA diferentes, cada uno de ellos aislado en un recipiente sobre una placa de plástico. Sin embargo, de cada fragmento, solo se podían leer unos 30 nucleótidos consecutivos. Esto no era nada comparado con las máquinas contemporáneas que se basan en el principio de Sanger, pero la pirosecuenciación era una técnica joven, y no había alcanzado el límite de sus posibilidades. De hecho, aunque no lo aprecié por completo entonces, representaba el principio de una revolución, conocida como «secuenciación de segunda generación», que cambiaría profundamente no solo nuestras investigaciones sobre el antiguo DNA sino también muchos aspectos de la biología.

Tenía muchas ganas de probar la pirosecuenciación, así que le pedí a Henrik Kaessmann pasar una temporada en el laboratorio de Mathias en el Real Instituto de Tecnología de Estocolmo. Henrik aprovechó la oportunidad para sorprender al personal de Estocolmo con su sueco intachable: aunque se ha criado en Alemania meridional, habla con fluidez la lengua gracias a su madre sueca. También fue capaz de generar datos de las poblaciones humanas actuales en Europa y Asia que ayudarían a mostrar cómo estaban relacionadas unas con otras. Como todas las técnicas eran nuevas, esto requirió aprender nuevas habilidades y algo de resolución de problemas, pero funcionó bien.

En agosto de 2003, el comité de Pyrosequencing decidió ceder la patente de la tecnología a 454 Life Sciences, una empresa estadounidense fundada por el empresario Jonathan Rothberg. 454 Life Sciences intentó incrementar la pirosecuenciación con fluidos de nueva generación. Su innovación se basaba en añadir piezas cortas sintéticas de DNA a los extremos de las moléculas de DNA. Las cadenas simples de DNA eran entonces capturadas en gotas e ingeniosamente amplificadas en pequeñas burbujas de aceite, lo que permitía amplificar por separado, pero de forma simultánea, cientos de miles de cadenas diferentes en una gran

reacción. Después, se separaban las gotas unas de otras en una placa con cientos y miles de recipientes para el paso de la pirosecuenciación. Por último (y lo más importante), para mantener el control sobre qué recipientes estaban emitiendo destellos de luz de ciclo a ciclo, la empresa utilizaba métodos de seguimiento de imágenes tomadas prestadas de los astrónomos, que rastrean millones de estrellas en el cielo nocturno. Esto permitía secuenciar de manera simultánea no noventa y seis sino doscientos mil fragmentos de DNA a la vez.

Con esta capacidad, pensé que quizá podíamos simplemente secuenciar los fragmentos aleatorios de DNA que teníamos en un extracto de un antiguo hueso y ver todo lo que había allí. Este método de fuerza bruta sería distinto por completo del método basado en la PCR, con el que intentábamos pescar cada trozo de secuencia que queríamos estudiar. El método de la PCR no solo era tedioso sino también (ya que teníamos que decidir de antemano lo que íbamos a buscar) nos cegaba de hecho todas las demás secuencias del extracto. Aunque los instrumentos de la 454 Life Sciences no podían secuenciar fragmentos de DNA más largos de 100 nucleótidos, los fragmentos de DNA nuclear que habíamos visto en el trabajo de Alex, sobre los mamuts, y el trabajo de Hendrik, sobre el perezoso de tierra, nunca habían sido más largos de 100 nucleótidos, de todas formas. Estaba deseando probar una máquina 454.

Mathias y el personal que trabajaba en la pirosecuenciación no fueron los únicos con los que hablé de nuevos métodos. Otro fue Edward M. Rubin, un investigador del genoma dinámico y entusiasta que visitó nuestro laboratorio de Leipzig en julio de 2005. Estaba ansioso por oír su consejo. Profesor en el Lawrence Berkeley National Laboratory, de Berkeley, California, y director del Instituto del Genoma del Departamento de Energía de Estados Unidos (US Department of Energy's Joint Genome Institute), Eddy estaba seguro de que el camino de futuro era clonar

el DNA en bacterias, con más o menos los mismos métodos que yo había utilizado en los 80 cuando estaba trabajando con las momias en Upsala. Estos métodos, me dijo, era ahora mucho más eficaces de lo que lo habían sido entonces. Estuvimos de acuerdo en intentarlo con los osos de las cavernas, e hicimos extracciones de dos huesos fosilizados de osos de las cavernas que sabíamos que contenían grandes cantidades de mtDNA y las enviamos al laboratorio de Eddy en Berkeley. Allí las moléculas de DNA de los extractos fueron fusionadas con moléculas portadoras, lo mismo que yo había hecho en 1984, e introducidas en bacterias. Cuando las bacterias crecieron, constituyeron lo que se llama una «librería», en la que cada colonia bacteriana, o «clon», contenía millones de copias de una única molécula de DNA del extracto de hueso de oso de las cavernas. El DNA de cada una de estas colonias de la librería podía ser aislado y secuenciado, y así «leído», igual que un libro en una librería. El personal de Eddy había utilizado química tradicional de Sanger para secuenciar unos 14 000 clones aleatorios de dos de estas librerías, órdenes de magnitud mayor de lo que había sido posible en 1984. De los 14 000 clones, un total de 389, solo un 2,7%, portaban secuencias de DNA similares a las encontradas en el DNA de perro y, por tanto, quizá procedían del oso de las cavernas, y el resto de bacterias y hongos que habían colonizado los huesos tras la muerte del animal. Aunque la proporción de DNA endógeno en estos extractos de hueso era lastimosamente pequeña, el resultado no dejaba de ser apasionante porque mostraba que los huesos de las cuevas europeas sí contenían algún DNA nuclear.

Publicamos este resultado, con Eddy y su grupo de Berkeley como autores principales, en *Science* en 2005[4]. En este artículo afirmábamos, de forma algo pomposa, que esto suponía que la secuenciación del genoma de restos antiguos era posible. Pero después de que se publicara el artículo, algunas personas de mi propio grupo consideraron más a fondo lo que se había hecho,

hicieron algunos cálculos y llegaron a una conclusión aleccionadora. El grupo de Berkeley había secuenciado cada partícula de las librerías de DNA que habíamos enviado, y había encontrado un total de 26 861 nucleótidos del genoma del oso de las cavernas. Dado que habíamos usado unas pocas décimas de gramo de huesos para hacer estas librerías y que el genoma se compone de unos 3000 millones de nucleótidos, tendríamos que haber usado más de cien mil veces más hueso del que habíamos usado —en otras palabras, más de diez kilos, o veinticinco libras de hueso— para llegar incluso a una tosca visión general del genoma del oso de las cavernas. Moler tanto hueso y transformarlo en extractos para librerías de secuenciación sería factible, aunque tedioso en extremo, pero la enorme cantidad de secuenciación requerida resultaría muy cara. Y aunque funcionara, salvo imprevistos avances técnicos, nunca nos sería posible aplicar este método de fuerza bruta a los fósiles verdaderamente interesantes de los que solo teníamos minúsculas muestras. Secuenciar un genoma neandertal clonándolo en bacterias no parecía el camino que había que seguir, al menos a mí. De hecho, parecía imposible. Imaginaba que la mayor parte del DNA se perdería cuando se construyeran las librerías bacterianas, acaso porque nunca entraba en las bacterias en primer lugar, o porque era deglutido por enzimas dentro de las bacterias. Sin embargo, Eddy continuó siendo entusiasta al respecto y sugirió que la baja eficacia con la que se producían las secuencias de DNA de los extractos de DNA no era normal. Sostenía que los intentos futuros quizá funcionarían mejor y requerirían menos material de arranque.

A pesar del entusiasmo de Eddy, y además porque yo era reacio a basarme solo en un método, estaba seguro de que necesitábamos intentar la pirosecuenciación. Parecía factible aplicar de forma directa la versión 454 de la pirosecuenciación a todo el DNA en un extracto, eliminando así las pérdidas causadas por insertar el DNA en bacterias temperamentales. Y lo que es más,

Jonathan Rothberg y la empresa 454 habían creado una máquina que podía secuenciar cientos de miles de moléculas de DNA en un día. Pero no era fácil localizarle, ya que evitaba sabiamente estar disponible para aislarse de los científicos excéntricos que podrían de otra manera bombardearle con exigencias de acceso a su nueva tecnología. Lo intenté de muchas maneras y no lo conseguí. Por último hablé con Gene Myers, el mago bioinformático que había ayudado al famoso investigador del genoma Craig Venter a componer el genoma humano en 2000. Había conocido a Gene en un encuentro de bioinformática en Brasil en 2001 y enseguida me gustó su actitud irreverente hacia cualquier problema con el que se enfrentaba. Nos habíamos hecho amigos por el interés común en el esquí y en el submarinismo. Gene era ahora profesor en la Universidad de California en Berkeley y consejero de la empresa de Rothberg, así que en julio de 2005 me puso en contacto con Jonathan por correo electrónico.

Jonathan organizó una conferencia telefónica conmigo y Michael Egholm, un científico danés que llevaba las operaciones en 454. Cuando Jonathan se puso al teléfono empecé a preocuparme. Era tan enérgico e intenso como había esperado de un empresario de su calibre, pero parecía interesado en solo una cosa: ¡secuenciar DNA de dinosaurio! No estaba seguro de cómo manejar esta inoportuna predilección, porque me habían grabado diciendo que el DNA de dinosaurio era y seguiría siendo imposible. Intenté hacer hincapié en esta afirmación sin quemar los puentes, insistiendo en que había otros genomas interesantes que se podían secuenciar, sobre todo el de neandertal. Por fortuna, a Jonathan le intrigó enseguida la idea de que podríamos usar esta investigación para identificar qué cambios nos han hecho plenamente humanos. También les convencí, tanto a él y como a Egholm, de que sería bueno empezar con un mamut y un oso de las cavernas.

Una semana más tarde enviamos un extracto de mamut y un extracto de oso de las cavernas a 454 Life Sciences. Por la misma época, Richard E. (Ed) Green, un bioinformático muy trabajador e inteligente, se unió a nuestro laboratorio procedente de la UC de Berkeley, donde acababa de terminar el doctorado. Le habían concedido una beca prestigiosa y bien dotada de la National Science Foundation de Estados Unidos para emprender un proyecto que comparara el *splicing* o empalme del RNA en humanos y grandes simios. El *splicing* es el procedimiento por el que las copias de RNA de genes son cortadas y unidas para formar las moléculas de RNA mensajero que dirigen la síntesis de las proteínas. La idea era que las diferencias en cómo se empalmaban los genes podía contribuir a explicar muchas diferencias entre humanos y chimpancés. Pero justo cuando Ed empezó con esto nos llegaron los primeros datos de 454 Life Sciences.

El personal de 454 había creado secuencias de DNA de cientos de miles de piezas de DNA de huesos de mamut y oso de las cavernas. Le pedí a Ed que observara el primer problema de las secuencias de DNA, separando las que procedían de los especímenes mismos de aquellas que procedían de bacterias contaminantes y otros organismos. No era una cuestión trivial. Comparó las secuencias de DNA de los huesos con las secuencias del genoma del elefante y el perro, los dos animales actuales con secuencias de genomas disponibles relacionados de forma más estrecha con los mamuts y osos de las cavernas, respectivamente. Pero las secuencias de DNA antiguo eran cortas y era probable que tuvieran errores inducidos por modificaciones químicas que se habían producido a lo largo de milenios. Además, el número e identidad de las bacterias y hongos de los huesos eran desconocidos. Pero el reto de esta historia de DNA antiguo resultó irresistible para Ed; pronto se había olvidado de todo lo relacionado con el *splicing* de RNA. Acabó escribiendo una carta al administrador que manejaba su beca en la National Science Foundation,

explicando cómo habían cambiado la línea de investigación de su proyecto. Por desgracia, la NSF carecía de perspectiva para reconocer que el genoma neandertal era una oportunidad impresionante para un biólogo computacional; así que le anuló la beca. Por suerte, nuestro presupuesto era lo bastante grande como para permitirnos mantener a Ed con nosotros.

Mientras tanto, Ed había descubierto que casi un 2,9% del DNA extraído del hueso de mamut procedía de hecho del mamut, y un 3,1% del DNA del hueso del oso de las cavernas procedía del oso de las cavernas. Esto quería decir que eran bastante buenos nuestros estudios anteriores, cuando trabajamos con Eddy Rubin, en los que solo el 5% de las secuencias de oso de las cavernas producidas tras la clonación venían en efecto del oso de las cavernas. Tres o cinco por ciento no parece mucho, pero en total teníamos ahora 73 172 secuencias de DNA de mamut diferentes y 61 667 secuencias de oso de las cavernas diferentes. Esto suponía que en un único experimento, para el cual ni siquiera habíamos usado el extracto entero, el análisis de la empresa 454 había producido casi diez veces más datos que los que habíamos obtenido de la clonación bacteriana del DNA del oso de las cavernas en Berkeley. Esto me parecía un verdadero avance, pero el análisis no carecía de riesgos. Nuestro método original, basado en la PCR, nos permitía repetir los experimentos muchas veces, tanto para asegurarnos de que conseguíamos las mismas secuencias como para detectar errores en ellas. Nuestro nuevo método nos permitía ver cada secuencia solo una vez, y como ambos genomas eran tan grandes, era improbable que viéramos otra copia del mismo segmento en el genoma del mamut o del oso de las cavernas entre nuestras secuencias. Por ello, no podíamos determinar de inmediato hasta qué extremo el daño químico en el DNA antiguo, y los consiguientes errores en la secuencia, podían influir en nuestros resultados.

De todas formas, detectar errores no era un problema nuevo, y ya habíamos hecho algunos progresos. Unos pocos años antes, en 2001, Michael Hofreiter, entonces estudiante de posgrado en mi laboratorio, había demostrado, junto con otros miembros del grupo, que la forma más común de daño en el DNA que provocaba errores en las secuencias de DNA antiguo era la pérdida de un grupo amino de la citosina del nucleótido. Esto se produce de manera espontánea en el DNA siempre que haya presencia de agua, incluso en cantidades pequeñas. Cuando la citosina (C) pierde su grupo amino, se convierte en uracilo, un nucleótido que se encuentra con frecuencia en el RNA. Las DNA polimerasas lo leen como T. Al comparar nuestras secuencias de mamut y oso de las cavernas con las de elefante y perro, podíamos comprobar si estábamos viendo más T de lo esperado en lugares en los que los animales actuales tenían C. Lo que vimos fue una clara superabundancia de T. Pero, para nuestra sorpresa, vimos también un incremento más modesto de guanina (G) relacionada con la adenina (A), lo cual sugería que las A también podrían perder sus grupos aminos en los DNA antiguos, igual que lo hacían las C. Para comprobar este concepto, usamos piezas sintéticas de DNA en las que introdujimos tanto C como A sin sus respectivos grupos amino, para ver cómo serían leídos por la DNA polimerasa que 454 Life Sciences había usado para amplificar el DNA en la pirosecuenciación. La DNA polimerasa no solo leía C sin grupos amino como T, sino también A sin grupos amino como G. Así que escribimos en un artículo, que apareció en *Proceedings of the National Academy of Sciences* en septiembre de 2006, que no solo las C sino también las A podían perder sus grupos amino[5]. Sin embargo, muy pronto resultó que estábamos equivocados.

Mientras tanto, habían aparecido sutiles fricciones entre mi grupo y el grupo de Eddy Rubin en Berkeley. Para nosotros en Leipzig, estaba claro que la pirosecuenciación era al menos diez

veces más eficaz que la clonación bacteriana. Creíamos que el procedimiento de clonación bacteriana implicaba grandes pérdidas de DNA, probablemente en el paso en que se instaba a las bacterias a que captaran el DNA. Sin embargo, Eddy estaba convencido de que la baja eficiencia vista en el experimento del oso de las cavernas era una coincidencia. Se mostraba entusiasta sobre este tema en las conferencias telefónicas que teníamos con su grupo. Y a mí me desgarraba nuestro desacuerdo. Parecía, después de muchos años de frustración, no solo que podría ser posible llegar a una secuencia del genoma neandertal entero, sino que había múltiples formas de hacerlo. Pero yo pensaba que el proyecto sería sostenible solo si se requerían gramos, y no kilogramos, de hueso, como se necesitaba con la técnica de Eddy. La pirosecuenciación de la empresa 454 parecía cumplir con las condiciones, pero Eddy acabó convenciéndome de que le diéramos una oportunidad más a la clonación bacteriana. Así que decidí comprobar los dos métodos, la clonación bacteriana y la secuenciación directa de moléculas, cara a cara, y hacerlo con lo que de verdad importaba: el DNA neandertal.

Preparamos dos extractos de lo que consideramos que era nuestra mejor muestra neandertal, un hueso conocido como Vio-80. David Serre había secuenciado una parte muy variable de su DNA mitocondrial en 2004. A mediados de octubre de 2005, enviamos un extracto para que lo secuenciara directamente Michael Egholm y su equipo en 454 Life Sciences, y otro extracto al grupo de Eddy Rubin para que lo clonaran en bacterias y luego lo secuenciaran. Los extractos los había preparado Johannes Krause, trabajando en nuestro cuarto limpio. Resultaba preocupante enviarlos después a los laboratorios de Connecticut y California donde podrían contaminarse. Una vez que los test demostraran qué método era el mejor, necesitaríamos establecer ese método en nuestro cuarto limpio.

Mientras tanto, otro nuevo estudiante de posgrado, Adrian Briggs, llegó a nuestro grupo. Recién acabados sus estudios universitarios en Oxford, Adrian era sobrino de Richard Wrangham, el conocido primatólogo de Harvard. Me había preocupado que los lazos familiares de Adrian y su educación de Oxford le hubieran hecho engreído y arrogante, pero mis temores eran infundados por completo. Aún mejor, Adrian tenía una capacidad asombrosa para el razonamiento cuantitativo sobre problemas de una manera que nadie más en el grupo tenía. Y lo mejor de todo, nunca hizo que los demás pareciéramos estúpidos, aunque razonaba sobre problemas con más rapidez y precisión que cualquiera de nosotros. Mientras que yo no tenía más que una corazonada de que la mayor parte del DNA se había perdido en el proceso de hacer las librerías del oso de las cavernas en Berkeley, Adrian calculó que solo cerca de un 0,5% del DNA que enviamos al grupo de Eddy Rubin había acabado realmente en las librerías bacterianas que producían. Adrian también calculó que para secuenciar los más de 3000 millones de pares de bases del genoma de un oso de las cavernas o de un neandertal sería necesario aislar y secuenciar unos 600 millones de clones bacterianos, un hecho imposible desde el punto de vista logístico incluso en el Joint Genome Institute de Eddy. Esto significó una sólida base a mi preocupación sobre la clonación: como es obvio, el procedimiento de clonación en bacterias no era ni mucho menos tan eficaz como sería necesario para conseguir el genoma neandertal. En una conferencia telefónica bastante tensa en enero de 2006, Adrian presentó estos resultados al grupo de Eddy. Sin embargo, Eddy aún pensaba que algo había salido mal en sus librerías del oso de las cavernas del laboratorio. Mientras tanto, el trabajo tanto en el laboratorio de 454 como en el de Eddy continuaba.

Pero no éramos los únicos que pensábamos en intentar la pirosecuenciación con el DNA antiguo. A principios de 2006, mientras Ed Green estaba ocupado analizando nuestros datos de oso

de las cavernas y mamut, apareció un artículo en *Science* de mi anterior estudiante de posgrado, Hendrik Poinar, ahora en la Universidad McMaster de Ontario, en colaboración con Stephan Schuster, de la Penn State University. Utilizaban la pirosecuenciación aplicada directamente al extracto de DNA, igual que habíamos hecho con 454 Life Sciences, para determinar 28 millones de nucleótidos de DNA de un mamut de permafrost[6]. Me alegré de que un antiguo alumno estuviera haciendo esto, aun cuando nuestro grupo se entristeciera por no ser los primeros en publicar las secuenciación de DNA antiguo usando la pirosecuenciación. Hacía muchos meses que teníamos nuestros datos de mamut y oso de las cavernas, pero dedicamos demasiado tiempo a dos cosas que el artículo de *Science* no tenía: analizar la mejor manera de que coincidieran las secuencias de DNA que habíamos secuenciado con los genomas de referencia, y considerar cómo afectarían a los resultados los errores de las secuencias. Aun así, el artículo de Hendrik era una prueba más de que el camino que había que seguir era la secuenciación directa. También demostraba, una vez más, que el material de permafrost podía estar asombrosamente bien conservado. Casi la mitad del DNA de la muestra de Hendrik era del mamut, muy lejos de lo que podíamos esperar de nuestros neandertales: nos alegrábamos cuando conseguíamos un extracto que contuviera 1 o 2% de DNA neandertal. El artículo de Hendrik también ilustraba un dilema de la ciencia: al hacer todos los análisis y experimentos necesarios para contar la historia completa te expones a los ataques en la prensa de quienes quieren publicar una historia menos completa que, sin embargo, recalca lo principal que tú querías recalcar. Incluso cuando publicas un artículo mejor, se considera que estás apoderándote de los detalles de alguien que es quien ha llevado a cabo el verdadero descubrimiento. En nuestro grupo se debatió en profundidad este punto después de que apareciera el artículo de Hendrik. Algunos pensaban que teníamos que haber

publicado antes. Al final, el análisis de nuestras secuencias de oso de las cavernas y mamut apareció en el número de septiembre de 2006 de *Proceedings*, donde, irónicamente, acabábamos transmitiendo conclusiones erróneas sobre A desaminadas que daban lugar a mutaciones en las secuencias[7].

Todos los años, en mayo, hay un encuentro sobre biología del genoma en el laboratorio de Cold Springs Harbor, en Long Island. Este encuentro es la cumbre no oficial de los científicos del genoma de todo el mundo, y se espera que los presentadores hablen de resultados innovadores todavía inéditos. Suele ser un asunto intenso, al que dan color la rivalidad entre los centros del genoma y, a veces, los conflictos y agresiones que se generan por la carrera para secuenciar el genoma humano.

En 2006, el encuentro sobre el genoma resultó aún más intenso para mí de lo que suele serlo. Acabábamos de conseguir resultados de la secuenciación neandertal tanto en 454 Life Sciences como en el grupo de Eddy Rubin de Berkeley, y habíamos hecho algunos análisis preliminares de ellos. Mi charla tenía dos metas. Primero, quería presentar una comparación entre las dos diferentes técnicas para secuenciar el DNA antiguo. Segundo, quería establecer una hoja de ruta de cómo se podría conseguir una secuencia de todo el genoma neandertal y de otros organismos extintos. Los resultados confirmaban que la pirosecuenciación era el método del futuro, así que pondría énfasis en ello.

Estaba más nervioso que nunca cuando llegué a Cold Spring Harbor. Me alojaba en una pequeña habitación espartana en el campus, honor otorgado a los asistentes frecuentes al encuentro, mientras que a otros había que traerlos en autobuses desde hoteles remotos. Pasé todo el vuelo a Nueva York y la primera noche en mi diminuta habitación preparando mi charla. Al día siguiente, reuní a las personas de mi laboratorio que asistían al encuentro y di una charla práctica en un vestíbulo lateral. Tenía la sen-

sación de que esta sería una charla que definiría lo que íbamos a hacer en los próximos años.

No es normal tener la atención absoluta del público cuando se da una charla científica. El Encuentro de Biología del Genoma en Cold Spring Harbor es un ejemplo de ello. Ya había dado muchas charlas allí y estaba acostumbrado a ver a la mayoría de las aproximadamente 600 personas de la sala manejar sus ordenadores portátiles revisando sus propias presentaciones, o enviando correos electrónicos a colegas, o dormitar debido a los efectos del *jet lag* y las muchas charlas demasiado especializadas. Pero esta vez era diferente. Mientras me abría camino a través de los resultados del mamut y el oso de las cavernas hacia los datos neandertales, podía sentir que tenía la atención absoluta y total del público. Mi última diapositiva era un mapa de cromosomas humanos, con flechitas que mostraban dónde encajaban las decenas de miles de piezas de DNA de los neandertales que habíamos secuenciado. Cuando la diapositiva desapareció, oí lo que sonaba como un resoplido entre el público. Nuestras secuencias solo llegaban a un 0,0003% del genoma neandertal, pero estaba claro para todo el mundo que habíamos demostrado que, en principio, se podía secuenciar todo.

CAPÍTULO 11

INICIO DEL PROYECTO GENOMA

Esa noche, cuando volví a mi cuartito del laboratorio de Cold Spring Harbor, me tumbé en la cama y me quedé mirando el techo. Hasta entonces, había hecho una buena carrera, se podría decir, incluso, que distinguida. Tenía un puesto permanente de investigación con sólida financiación, estaba trabajando en proyectos interesantes y me invitaban varias veces al año a dar charlas alrededor del mundo. Ahora había sacado la cabeza de verdad, y había prometido en público secuenciar el genoma neandertal. Si lo conseguíamos, sería sin duda mi mayor logro hasta la fecha; pero si fracasábamos sería un bochorno muy notorio, casi seguro de los que acaban con la carrera de uno. Y sabía que el éxito no iba a ser tan fácil como había parecido en mi charla. Necesitábamos tres cosas para tener éxito: muchas máquinas de secuenciar de la empresa 454, mucho más dinero y buenos huesos neandertales. No teníamos ninguna de las tres, pero por fortura nadie parecía darse cuenta de ello. Pero yo sí lo sabía demasiado bien, y me quedé tumbado en la cama mucho rato, con todas las cosas que necesitábamos para que el proyecto fuera posible dándome vueltas en la cabeza.

La primera prioridad era el acceso a muchas máquinas de secuenciar de 454 Life Sciences. Un paso obvio sería visitar a Jonathan Rothberg en Branford, Connecticut, que no estaba lejos de Cold Spring Harbor. A la mañana siguiente, en el desayuno, reuní a las personas clave implicadas en nuestro trabajo del neandertal, todas los cuales estaban en ese encuentro: Ed Green, Adrian Briggs y Johannes Krause. Después del desayuno, nos subimos a mi coche de alquiler y salimos hacia Branford. Tengo la mala costumbre de contraer demasiados compromisos en poco tiempo y como consecuencia llego siempre tarde a mis citas, vuelos y otras actividades programadas. Esta salida no fue una

excepción. Mientras conducíamos hacia Port Jefferson, al norte de Long Island, nos dimos cuenta de que con toda probabilidad íbamos a perder el transbordador que cruzaba de Long Island Sound hacia Bridgeport. Eso fue lo que sucedió y nuestro coche fue el último en apiñarse a bordo (de hecho, la parte trasera del coche sobresalía sobre el agua mientras hacíamos la travesía). Esperaba que esta llegada por los pelos fuera un buen augurio.

Fue la primera de varias visitas a 454 Life Sciences. Jonathan Rothberg era en persona tan intenso y repleto de ideas inconformistas como se había mostrado por teléfono. Como contrapeso, estaba Michael Egholm, el danés de mente práctica preocupado por poner los pies en la tierra y conseguir que las cosas se hicieran. A medida que progresaba el proyecto, llegué a apreciarlos a los dos mucho; entre la visión y el empuje de Jonathan y el sentido práctico y sensato de Michael, hacían una pareja excelente. Nuestra conversación de aquel día se centró en qué se necesitaría para secuenciar el genoma neandertal. Estaba claro que aplicaríamos la «técnica al azar» (*shot-gun*) que Craig Venter había presentado y utilizado en su apuesta por secuenciar el genoma humano en su empresa Celera. Este método implicaba secuenciar fragmentos al azar y luego unirlos por computación buscando superposiciones entre fragmentos. Una complicación importante la constituyen las secuencias repetitivas de DNA en el genoma; tales secuencias constituyen casi la mitad de los genomas de humanos y simios. La mayoría de estas secuencias repetitivas tienen una longitud de unos centenares o incluso miles de nucleótidos, y muchas no aparecen solo unas pocas veces, sino muchos miles de veces a lo largo del genoma. Por tanto, los métodos al azar suelen utilizar no solo fragmentos cortos de DNA, sino también fragmentos más largos para poder «puentear» estas secuencias de repetición con fragmentos que las «anclen» a secuencias de copia única a cada lado de la repetición. Se proyectó usar el genoma humano de referencia (el primer genoma humano, secuenciado

proyecto público del genoma) como patrón para reconstruir las secuencias del neandertal. Pero mientras esto funciona para secuencias de DNA que se producen una única vez en el genoma, no podíamos esperar que se pudiera determinar las secuencias de todas las partes repetidas. A mí me parecía un sacrificio pequeño: las secuencias de copia única tienden a ser las partes más interesantes de un genoma porque contienen la mayoría de los genes con funciones conocidas.

También necesitábamos decidir cuánto genoma había que secuenciar. Antes de visitar 454 Life Sciences, había decidido secuenciar unos tres mil millones de nucleótidos de nuestros huesos neandertales. Este objetivo venía dictado sobre todo por lo que yo pensaba que era posible, y también porque se aproximaba al tamaño del genoma humano. La naturaleza fragmentada del DNA antiguo suponía que conseguiríamos secuencias de muchos trocitos del genoma solo una vez; otros trocitos, dos veces, de dos fragmentos independientes; otros tres veces, y así sucesivamente. También suponía que habría muchas partes del genoma que no veríamos en absoluto, porque sucedería que ningún fragmento de DNA que secuenciáramos las contendría. Estadísticamente, podíamos esperar conseguir dos tercios del genoma completo al menos una vez y por tanto nos quedaríamos sin ver un tercio. En términos de genoma, esto se llama «cobertura de una vez» (*1-fold coverage*) ya que estadísticamente cada nucleótido tiene la oportunidad de ser visto una vez. Pensé que la cobertura de una vez era una meta alcanzable, y que proporcionaría una buena visión de conjunto del genoma neandertal. Era relevante que el genoma resultante iba a ser una especie de peldaño importante en el proceso. Las secuencias futuras, procedentes de otros neandertales, podían juntarse a las nuestras para llegar a una «cobertura» mayor hasta que acabara por verse todo el genoma, al menos las partes que no eran repetitivas.

La meta que yo había establecido para nosotros era así algo arbitraria. Comparada con los esfuerzos de secuenciación dedicados a los genomas actuales, era también bastante humilde, ya que estos otros proyectos aspiraban a una cobertura de 20 veces o más. Sin embargo, la tarea seguía siendo monumental. Nuestros extractos mejores solo contenían un 4% de DNA neandertal. Contaba con encontrar más huesos de este tipo y esperaba que algunos contendrían incluso un poco más de DNA neandertal, suponiendo que, si la media se mantenía en 4%, para conseguir nuestros tres mil millones de nucleótidos tendríamos que generar unos 75 millones de nucleótidos en total. Y como nuestros fragmentos eran cortos, entre 40 y 60 nucleótidos de media, ello sumaba hasta 3000 o 4000 sesiones de las nuevas máquinas de secuenciar. Era el equivalente a dedicar la instalación completa de 454 Life Sciences al proyecto neandertal durante muchos meses, y aun a precios normales de cliente nos sería imposible siquiera planteárnoslo.

Ed, Adrian, Johannes y yo debatimos todo esto con Jonathan y Michael. El proyecto era atractivo no solo para Jonathan sino también para 454 Life Sciences como empresa, a causa de su potencial tanto para proporcionar visiones verdaderamente únicas de la evolución humana como, también y desde un punto de vista más pragmático, para conferirle a la tecnología de 454 una visibilidad aún mayor. Acepté contento que los trabajadores de la empresa fueran verdaderos socios científicos nuestros, así como coautores de las futuras publicaciones, pero eso no suponía que pudiéramos secuenciar gratis. Acabamos por acordar un precio: 5 millones de dólares. No tenía claro si esto era una buena o una mala noticia. Era más dinero del que había esperado pagar, pero tampoco era una suma descabellada. Les dijimos que volveríamos a casa y nos lo pensaríamos.

Después de llevar a cabo las negociaciones, Jonathan nos ofreció a los cuatro sándwiches y refrescos, y luego preguntó si que-

ríamos ver su casa antes de volvernos al encuentro en Cold Spring Harbor. Aceptamos. Después de nuestro almuerzo tardío, le seguimos a su casa. Yo me he criado en circunstancias humildes, y mi madre, refugiada de la invasión soviética de Estonia al final de la Segunda Guerra Mundial, me había transmitido un punto de vista muy pragmático. El resultado es que no me impresiona fácilmente el lujo. Pero la visita a la vivienda de Jonathan resultó memorable, aunque no llegamos a ver su casa. En su lugar visitamos los terrenos donde vivía, en una península en Long Island Sound. En la playa había construido una réplica exacta del monumento megalítico de Stonehenge, excepto que estaba hecha de granito noruego y por tanto era más pesada que el original, y estaba modificada un poco teniendo en cuenta cómo caería el sol entre las piedras en los cumpleaños de los miembros de su familia. Mientras caminábamos entre los enormes monolitos, Jonathan se volvió hacia mí y me dijo: «Ahora creerás que estoy loco». Por supuesto, dije que no, pero no solo por cortesía. En realidad no pensaba que Jonathan estuviera loco. Le fascinaba profundamente la historia antigua, y lo que es más importante, tenía grandes ideas y era capaz de convertir sus sueños en realidad. Su Stonehenge de Connecticut fue otro buen presagio de nuestro compromiso.

Al día siguiente, de vuelta en Cold Spring Harbor, no me podía concentrar en absoluto. Cinco millones de dólares era mucho dinero, tanto como diez veces una gran subvención de investigación en Alemania. La Max Planck Society proporciona generosos fondos a los directores de sus institutos para que puedan concentrarse en la investigación y no en conseguir subvenciones, pero 5 millones seguía siendo una cantidad mucho mayor que todo el presupuesto anual de mi departamento. Me preocupaba que tuviéramos que cederle este proyecto a algún centro de genoma solo porque no tuviéramos el dinero. Entonces me acordé de Herbert Jäckle, el biólogo del desarrollo que había contribuido a

convencerme de que me trasladara a Alemania en 1989 siendo él profesor de genética en Múnich. Él también se había trasladado a un instituto Max Planck, el Instituto de Química Biofísica de Gotinga, y de nuevo había desempeñado un papel importante, aunque no oficial, al conseguir que me trasladara, en 1997, de Múnich a Leipzig para unirme a la puesta en marcha del Instituto de Antropología Evolutiva. De hecho, desde que llegué a Alemania, cada vez que me había enfrentado a encrucijadas esenciales de mi vida científica, Herbert siempre había estado ahí apoyándome y aconsejándome. Ahora era vicepresidente de la sección biomédica de la Max Planck Society. Por fortuna, la sociedad es una organización de investigación de la que están a cargo científicos, como Herbert, más que administradores o políticos. Esa misma tarde decidí llamarle desde Cold Spring Harbor.

No llamo a menudo a Herbert, así que creo que se dio cuenta de que se trataba de algo importante y urgente. Cuando le tuve al teléfono, le describí nuestros cálculos sobre la viabilidad de la secuenciación del genoma neandertal y su coste, y le pedí si tenía algún consejo sobre cómo conseguir tanto dinero en Europa. Me dijo que se lo pensaría y me volvería a llamar pasados unos días. Volé de vuelta a Leipzig al día siguiente, desgarrado entre la esperanza y la desesperación. Quizá podríamos encontrar un rico benefactor, pero ¿cómo se encuentra a uno de estos?

Dos días después de mi vuelta, fiel a su palabra, Herbert me llamó. Me contó que la Max Planck Society había establecido recientemente un fondo de innovación presidencial para apoyar proyectos extraordinarios de investigación. Había hablado de nuestro proyecto al presidente de la sociedad, y la sociedad estaba dispuesta —en principio— a apoyarnos con los fondos solicitados, distribuidos en tres años. Incluso habían reservado el dinero, pendiente de una propuesta escrita que requeriría ser revisada por expertos en la materia. Me quedé estupefacto; ni siquiera recuerdo haberle dado las gracias como es debido antes de

colgar. Este dinero lo cambiaba todo en el mundo. Corrí de mi oficina al laboratorio y tartamudeé la noticia a la primera persona que me encontré. Justo después me senté y empecé a redactar la propuesta describiendo los resultados y cálculos que nos habían convencido de que podíamos secuenciar el genoma neandertal en tres años, si teníamos recursos suficientes.

Como conclusión de la propuesta, tenía que presentar un plan financiero. Cuando empecé a trabajarlo, me ocurrió algo muy embarazoso. Cuando había llamado a Herbert desde Estados Unidos y le había dicho que necesitábamos «5 millones» para el proyecto, hablaba en términos de dólares americanos. Herbert, en Europa, debió de pensar que quise decir 5 millones de euros. Es posible incluso que *dijera* que la Max Planck Society había reservado «5 millones de euros» para nuestro proyecto, pero yo estaba demasiado emocionado como para haberme dado cuenta. Al tipo de cambio, entonces, eso suponía 6 millones de dólares. ¿Qué hacer? Quizá podía incrementar discretamente el presupuesto para acomodar el 20% adicional de fondos, pero ello hubiera sido deshonesto y podría incluso notarse cuando firmáramos el contrato con 454 Life Sciences. Llamé a Herbert y, con considerable embarazo, le expliqué la situación. Se echó a reír. Me preguntó si no íbamos a tener costes adicionales en Leipzig, aparte de lo que teníamos que pagarle a 454 Life Sciences por la secuenciación. Por supuesto que tendríamos. Tendríamos que extraer DNA de muchos fósiles para encontrar los buenos, y probarlos todos haciendo sesiones de secuenciación por nuestra cuenta. Así que necesitábamos comprar nuestra propia máquina de secuenciar a 454 para comprobar todos los extractos, y necesitábamos reactivos para que funcionara. Con la diferencia que daba el tipo de cambio, podíamos hacer que el proyecto despegara de verdad. Eufórico, redacté un proyecto que incluía el trabajo que tendríamos que hacer en nuestro Instituto de Leipzig.

Mientras tanto, el grupo de Eddy Rubin había hecho en Berkeley una librería bacteriana de todo el extracto neandertal que les habíamos enviado. Jim Noonan, el posdoctorando de Eddy, había secuenciado cada gota. Lo que habían recuperado ascendía a un poco más de sesenta y cinco mil pares de bases. En Branford, habían utilizado casi un 7% del extracto que les habíamos enviado y habían producido un millón de pares de bases. Por tanto, como había predicho Adrian, la investigación de secuenciación directa era unas doscientas veces más eficaz en la generación de secuencias de DNA a partir de un extracto. A pesar de ello Eddy seguía insistiendo en que su método podía ser más eficaz, y que debíamos seguir enviándole extractos. Se trataba de un desacuerdo fundamental. Me di cuenta con cierta inquietud de que en conciencia no podía seguir enviando extractos a Berkeley, cuando nosotros podíamos generar muchos más datos a partir de cada extracto en Branford. Pero postergué la decisión, pensando que le resultaría evidente a Eddy que la clonación bacteriana era ineficiente una vez que redactáramos el manuscrito que describiría los resultados de los dos diferentes métodos.

Sin embargo, para entonces ya era imposible concebir una manera de escribir solo un artículo, dado el uso de dos métodos completamente diferentes, la tremenda diferencia en las cantidades de datos generados y el desacuerdo con Eddy sobre la viabilidad de la investigación con la librería bacteriana. Por ello, decidimos escribir dos artículos. Uno lo escribiría Eddy con nosotros como coautores, el otro lo escribiríamos nosotros con Michael Egholm, Jonathan Rothberg y los demás de la empresa 454. El artículo de Eddy afirmaba: «La baja cobertura en la librería NE1 es más probable que se deba a la calidad de esta librería en particular que a que sea un rasgo general del DNA antiguo», sugiriendo que si se reunían más librerías se conseguirían mejores resultados. Dado que las anteriores librerías de oso de las cavernas habían sido igual de ineficientes, yo no estaba de acuerdo con esa

afirmación, pero nos mantuvimos civilizados. En junio, Eddy remitió el artículo a *Science* y en agosto fue aceptado. Como teníamos muchos más datos para analizar para el artículo con la empresa 454, no pudimos enviar nuestro artículo a *Nature* hasta julio. Eddy amablemente acordó con *Science* retrasar la publicación del artículo de la clonación hasta que el artículo con 454 Life Sciences fuera revisado y aceptado en *Nature* para que los dos artículos pudieran aparecer en la misma semana.

Mientras ocurría todo esto, empezamos a prepararnos para lo que esperábamos que fuera la producción de grandes cantidades de secuencias neandertales. Lo primero que hice fue disponer la producción de librerías de secuenciación de 454 en nuestro cuarto limpio de Leipzig para que los preciosos extractos proclives a la contaminación no tuvieran que salir de nuestro laboratorio. También usé una parte del dinero nuevo para encargar una máquina de secuenciación a la empresa 454 para poder comprobar las librerías. En ese momento, Michael Egholm y yo elaboramos un plan. Realizaríamos extractos de DNA de los huesos, produciríamos librerías de secuenciación 454 en nuestro cuarto limpio, y usaríamos nuestra nueva máquina de secuenciación 454 para comprobar las librerías. Cuando identificáramos librerías prometedoras, las enviaríamos a Branford para la producción de secuenciación. La secuenciación se haría por fases, y pagaríamos en cuotas una vez que se hubiera secuenciado cierta cantidad de nucleótidos neandertales. Esto último fue una sugerencia mía, y me sorprendió que 454 la aceptara, dado que nuestro trabajo anterior juntos había mostrado que la mejor librería hasta entonces solo había contenido un 4% de DNA neandertal y un 96% de DNA no deseado de origen bacteriano, fúngico o desconocido. Todavía no sabíamos qué porcentaje de DNA neandertal habría en las librerías que íbamos a crear. Si resultaba ser un 1% en lugar del 4%, la empresa 454 tendría que secuenciar cuatro veces otro tanto para conseguir su dinero, ya que el contrato estipulaba el

número de nucleótidos *neandertales* secuenciados, no el número *total* de nucleótidos totales (que incluiría los bacterianos). Ni los científicos de 454 ni sus abogados que vieron el contrato antes de firmarlo parecieron darse cuenta de esto. En cierto sentido no importaba, ya que había una cláusula que permitía a las dos partes abandonar la colaboración en cualquier momento. Estaba claro que, no íbamos a poder obligar a 454 a seguir secuenciando contra su voluntad. Pero seguía pareciendo un contrato mucho mejor que aquel que estipulara que la empresa secuenciaría cierta cantidad de nucleótidos en bruto para nosotros, con independencia de si estos eran de origen microbiano o neandertal.

Me sentía muy bien colaborando con la empresa 454. Complementábamos de forma excelente nuestras habilidades mutuas, y el personal de la empresa era agradable y comunicativo. Sin embargo, una diferencia entre nosotros es que la empresa 454 estaba bajo una gran presión por instalarse en un mercado emergente de tecnologías de secuenciación de alto rendimiento que estaba claro que se iba a hacer muy competitivo. Ya otras dos grandes empresas habían anunciado su intención de empezar a vender máquinas de secuenciación de alto rendimiento. Por tanto, 454 quería publicidad positiva sobre su compromiso con el proyecto neandertal, y no quería esta publicidad dentro de dos o tres años, cuando el genoma neandertal probablemente estaría secuenciado y publicado, sino lo antes posible. Igual que Michael Egholm había tenido en cuenta nuestras preocupaciones y prioridades, yo quería tomarme en serio las suyas. Así que, cuando se firmó el contrato con 454, les permitimos organizar una conferencia de prensa en nuestro Instituto en Leipzig, el 20 de julio de 2006, poco después de haber entregado nuestro artículo conjunto a *Nature*. Michael y otro alto ejecutivo de 454 acudieron en avión al acto. También invitamos a Ralf Schmitz, el conservador del espécimen tipo de Neandertal que nos había dado muestras del Museo de Bonn en 1997. Trajo consigo una copia

del hueso neandertal a partir del cual habíamos determinado las primeras secuencias de mtDNA neandertal. Redactamos un comunicado de prensa que señalaba que estábamos poniendo en marcha los métodos de análisis de DNA antiguo que nuestro grupo había desarrollado a lo largo de muchos años de duro trabajo con la nueva tecnología de secuenciación de alto rendimiento de 454 Life Sciences para analizar el genoma neandertal. También mencionábamos que, por una coincidencia, anunciábamos esto el día del 150 aniversario del descubrimiento del primer fósil neandertal en el valle de Neander.

La conferencia de prensa resultó un acontecimiento electrizante. La sala estaba llena de periodistas, y medios de todo el planeta la siguieron por Internet. Declaramos que nos proponíamos determinar unos 3000 millones de nucleótidos neandertales en dos años. Fue estupendo contemplar que lo que había iniciado en secreto en el laboratorio de Upsala hacía más de veinte años, con miedo de que mi supervisor descubriera lo que estaba haciendo, hubiera desembocado en esto. Fue un momento maravilloso.

También fue un momento de grandes altibajos científicos y emocionales. Casi un mes después de la conferencia de prensa vino un bajón definitivo. Los dos artículos dirigidos por Eddy Rubin y nuestro grupo aún no habían salido, pero ya habíamos compartido nuestros datos neandertales de la empresa 454 con Jonathan Pritchard, un joven y brillante genetista poblacional de la Universidad de Chicago que había ayudado a Eddy a analizar sus datos menores de fragmentos de DNA neandertal clonado. Recibimos un correo electrónico de dos posdoctorandos del grupo de Pritchard: Graham Coop y Sridhar Kudaravalli. Estaba preocupados por patrones que habían visto en los datos de 454; en particular, había cantidades mayores de diferencias con respecto al genoma de referencia humano en los fragmentos de DNA más cortos que en los fragmentos de DNA más largos. Ed

Green, de nuestro grupo, confirmó enseguida que tenían razón y esto era preocupante. Podía suponer que algunos de los fragmentos más largos no eran del genoma neandertal sino que representaban contaminación humana moderna. Envié un correo electrónico a Eddy, diciéndole que veíamos algunos patrones preocupantes en los datos de 454. Acordamos enviar nuestros datos al grupo de Eddy a cambio de sus datos. Después del intercambio de datos, Jim Noonan, del grupo de Eddy, nos contestó enseguida por correo electrónico diciéndonos que también veía lo que nosotros y los posdoctorandos de Chicago habíamos visto en los datos de 454.

Parecía que tendríamos que reescribir o retirar nuestro artículo de *Nature*, que ya estaba en prensa, y escribí un correo a Eddy diciéndole que intentaríamos descifrar qué estaba pasando tan deprisa como pudiéramos para no retrasar su artículo. Tiempo atrás, siendo posdoctorando en el laboratorio de Allan Wilson, habíamos retirado un artículo que *Nature* ya había aceptado porque habíamos descubierto un error en el análisis que cambiaba las conclusiones principales que presentábamos. Me preocupaba que tuviéramos que volver a hacerlo.

En estos momentos teníamos una actividad frenética en nuestro grupo. No era desproporcionado suponer que los patrones que había visto el grupo de Jonathan se debieran a algún nivel de contaminación, pero no era sencillo aproximarse a una estimación de cuánta contaminación podría haber. Sin embargo, habría sido un error suponer que tan solo la contaminación era el problema. Éramos muy conscientes de que no comprendíamos muchos aspectos de cómo se comportaban las secuencias cortas y dañadas de DNA antiguo en comparación con el genoma humano de referencia. ¿Quizá estaban en juego otros factores distintos de la contaminación? Por desgracia, teníamos que actuar deprisa, ya que nuestro artículo estaba ya en prensa y Eddy estaba ansioso por publicar el suyo.

Ed había notado que los fragmentos de DNA más cortos en nuestros datos de 454 contenían más nucleótidos G y C que los largos. Los nucleótidos G y C tienden a mutar más a menudo que los nucleótidos A y T, lo que podía provocar más diferencias entre los humanos actuales y los neandertales en las secuencias cortas (y ricas en GC) que en las secuencias largas (y ricas en AT). Para comprobarlo, Ed encajó fragmentos de neandertal cortos y largos con las secuencias correspondientes del genoma humano de referencia, y comparó aquellas secuencias del genoma humano de referencia con las de otros humanos actuales. Aunque estas comparaciones no incluían ninguna secuencia neandertal, sin embargo mostraban que las secuencias humanas correspondientes a las secuencias neandertales más cortas tenían más diferencias con respecto a otras secuencias humanas que las más largas. Esta observación sugería que las secuencias ricas en GC simplemente mutaban más deprisa, de manera que quizá explicaría el mayor número de diferencias visto en las secuencias más cortas. Sin embargo, antes de que pudiéramos estar seguros, también había que considerar otros factores, sobre todo la manera en que relacionábamos las secuencias neandertales con la secuencia del genoma de referencia humano. Ed observó que los fragmentos más largos del DNA neandertal tenían más posibilidad de encajarse en la posición correcta en el genoma humano que los fragmentos más cortos solo porque contenían más información de la secuencia. Por tanto, un porcentaje mayor de los fragmentos cortos podían ser fragmentos de DNA bacteriano que resultaban ser semejantes a alguna parte del genoma humano de referencia. Esto también podía llevar a observar que los fragmentos más cortos contenían más diferencias con respecto al genoma humano de referencia. Este fenómeno se podía haber pasado por alto en otros conjuntos de datos antiguos, por ejemplo, los datos de mamuts, en los que los fragmentos eran de media más largos. Pero me sentía muy incómodo. Parecía que cada día descubríamos cosas nuevas sobre

cómo diferían los fragmentos cortos y largos de DNA en cuanto a cómo se comportaban en nuestros análisis. Es obvio que no comprendíamos lo que estaba pasando. Lo que es más, aún no habíamos excluido la posibilidad de que nuestras muestras estuvieran contaminadas por DNA humano moderno.

Por supuesto, habíamos considerado la posibilidad de contaminación desde el principio. En los extractos que habíamos enviado a Eddy y a la empresa 454, habíamos comprobado el nivel de contaminación basado en el mtDNA y habíamos encontrado que era bajo. Sabíamos que la contaminación podría haber entrado en los extractos después de que estos salieran de nuestro laboratorio; incluso habíamos puesto una advertencia al respecto en nuestro manuscrito para *Nature*. Estaba convencido de que la única garantía sólida sobre la contaminación que teníamos era la basada en la evaluación de los fragmentos de mtDNA observados, ya que el mtDNA era la única parte del genoma en la que *conocíamos* la existencia de diferencias entre los neandertales y los humanos modernos. Todo lo demás estaba influido por imponderables, como las diferencias de contenido GC, las diferencias en fragmentos de DNA bacteriano erróneamente situados, y otros factores desconocidos. Así que argumenté que deberíamos volver a mirar el DNA mitocondrial en las secuencias que habían sido determinadas por la empresa 454.

En 2004 habíamos secuenciado una parte del mtDNA a partir del mismo hueso neandertal, Vi-80, del que habíamos preparado extractos de prueba para 454 y el grupo de Eddy. Sugerí que deberíamos mirar entre las secuencias que habíamos conseguido de 454. Era seguro que algunas de ellas debían estar solapadas con las posiciones de nucleótidos que diferían entre este individuo neandertal en particular y los humanos actuales. Esto nos daría información sobre qué fragmentos eran sin lugar a dudas de origen neandertal y cuáles eran de origen humano moderno, y nos permitiría estimar directamente el nivel de contaminación en el

conjunto de datos finales efectivos de 454. Pero, para nuestra frustración, Ed descubrió que no teníamos bastantes datos a mano para hacerlo. Las secuencias hechas por 454 solo contenían cuarenta y un fragmentos de mtDNA, y ninguno de ellos procedía de la parte del genoma de mtDNA que habíamos determinado con anterioridad a partir de este u otros neandertales. Comprobamos los datos de Berkeley, pero eran tan escasos que no se había observado ni siquiera un solo fragmento de mtDNA.

Por fortuna, había una solución: nos quedaba tanto de la librería que podíamos sencillamente secuenciar más fragmentos de DNA. Esto generaría fragmentos que podrían decirnos si teníamos contaminación en la librería o no. Me puse en contacto con 454 y convencí a su personal de que hicieran a toda prisa más secuenciación. Hicieron seis sesiones más a velocidad récord y, en cuanto transfirieron los datos a nuestro servidor, Ed encontró seis fragmentos que se superponían a posiciones de la parte variable del mtDNA que habíamos secuenciado en 2004. Los seis fragmentos ¡encajaban con el mtDNA neandertal y diferían del mtDNA humano actual! Estos eran datos directos que sugerían que teníamos muy poca contaminación en nuestras secuencias. Resultaba interesante que estas moléculas, aunque claramente antiguas, no eran muy cortas; cuatro de ellas tenían una longitud de 80 nucleótidos o más. Esto sugería que los fragmentos de DNA antiguos también estaban presentes entre los fragmentos de DNA más largos. Por tanto, era probable que las diferencias vistas entre moléculas cortas y largas se debieran a factores distintos de la contaminación. Ed estaba tan eufórico que finalizó el correo electrónico que describía estos resultados al grupo con «Os podría besar a todos».

Decidimos seguir adelante con el artículo para *Nature*. Susan Ptak, una genetista poblacional de nuestro grupo, envió un largo correo técnico a Eddy y Jim Noonan explicándoles por qué nos parecía que las comparaciones entre las secuencias largas y

cortas estaban influidas por demasiados factores, unos conocidos y otros desconocidos, como para que representaran fuertes evidencias de contaminación, y explicaban por qué confiábamos más en los datos directos del mtDNA. Escribía: «Aunque hay datos indirectos que sugieren cierto nivel de contaminación, tenemos ahora una medición directa de la tasa de contaminación en el conjunto de datos finales que sigue indicando que es baja». No recibimos respuesta a este correo. Dada la relación bastante tensa que se había creado entre nuestros dos grupos, no nos pareció muy sorprendente.

Fue un incidente muy tenso. Irónicamente, resultó que tanto Eddy como yo teníamos razón. El futuro mostraría que los datos generados en 454 sí que contenían contaminación, pero también que las formas indirectas de detectar la contaminación por medio de comparaciones de fragmentos largos y cortos eran en gran medida inadecuadas.

Los dos artículos se publicaron en *Nature* y *Science* los días 16 y el 17 de noviembre[1]. Se produjo gran entusiasmo en la prensa, algo a lo que ya me había acostumbrado para entonces. De hecho, yo estaba mucho más preocupado que emocionado. Habíamos prometido al mundo que secuenciaríamos 3000 millones de pares de bases del genoma neandertal en dos años. Nuestro artículo acababa con una estimación de lo que ello requeriría, a saber, unos veinte gramos de hueso y seis mil sesiones de la plataforma de secuenciación de 454. Decíamos que se trataba de una tarea abrumadora, pero añadíamos que podían «preverse fácilmente» los avances técnicos que harían del orden de diez veces más eficiente la recuperación de las secuencias de DNA. Las mejoras que teníamos en perspectiva implicaban perder menos material al hacer las librerías para la secuenciación y sacar ventaja de las secretas mejoras futuras de las máquinas de la empresa 454 que Michael nos había revelado.

Las cosas estaban mejorando, pero nos quedaba aún un reto importante: encontrar buenos huesos neandertales. La verdad era que *no* teníamos en ninguna parte los cerca de veinte gramos de hueso neandertal de la calidad del Vi-80, el hueso que utilizamos en las sesiones de prueba para los dos artículos. De hecho, el trozo que nos quedaba de Vi-80 pesaba menos de medio gramo. Con optimismo, me dije que, igual que uno de los primeros huesos de Vindija que probamos contenía casi un 4% de DNA neandertal, con seguridad encontraríamos otros que fueran igual de buenos. Quizá incluso encontraríamos algunos que fueran mucho mejores. Tenía que dedicar toda mi atención a este problema lo antes posible. Pero antes tenía que acometer una tarea más desagradable: dar por finalizada la colaboración con Eddy Rubin.

Cesar una colaboración científica es a menudo difícil, y lo es más aún cuando un colaborador se ha convertido en amigo personal. Me había alojado en casa de Eddy y su familia en Berkeley; habíamos subido en bicicleta las colinas hasta su laboratorio juntos; habíamos ido juntos al teatro en Nueva York durante los encuentros de Cold Spring Harbor. Siempre había disfrutado de su compañía. Así que medité mucho mi correo electrónico e hice varios borradores. Le expliqué las diferencias que tenía con él en cuanto a la utilidad de la clonación bacteriana, y le dije que creía que nuestra comunicación, especialmente en este aspecto, no había sido productiva. También mencionaba que parecía que su grupo estaba intentando hacer las mismas cosas que estaba intentando hacer el nuestro, en lugar de trabajar de manera complementaria. Por ejemplo, en nuestras conferencias telefónicas, ellos habían sugerido que les enviáramos nuestros extractos de DNA y el reactivo PTB que habíamos sintetizado para poder tratar nuestros extractos con nuestro PTB. Ni a mí ni a mi grupo nos había entusiasmado esta idea. Esperaba haber expresado mis razones para no trabajar juntos de una manera que no fuera hirien-

te ni insultante, pero aún así envié el correo con temor. Eddy contestó diciendo que entendía mi punto de vista, pero que seguía creyendo en el futuro potencial de las mejoras y la utilidad de las librerías bacterianas. Me alivió que se hubiera tomado bien mi carta, pero ahora estaba claro que éramos más competidores que colaboradores.

La competición se hizo visible casi en cuanto volqué mi atención en conseguir los huesos neandertales. Descubrí que Eddy estaba intentando conseguirlos también y, en gran parte, de las mismas personas con las que habíamos estado trabajando durante años. De hecho, descubrí que ya en el mes de julio anterior la revista *Wired* había publicado un artículo sobre la labor de Eddy con los neandertales. El artículo de *Wired* acababa con una cita de Eddy: «Necesito conseguir más hueso. Iré a Rusia con un saco y un sobre lleno de euros, y buscaré hombres de anchos hombros. Lo que haga falta».

CAPÍTULO 12

HUESOS DUROS

Incluso antes de que apareciera nuestro artículo en *Nature*, Johannes Krause había empezado a preparar extractos de huesos neandertales que habíamos recogido en Croacia y otros lugares de Europa a lo largo de los años, esperando encontrar un hueso que pudiera contener tanto DNA como el Vi-80 o más. Johannes era alto y rubio, no muy diferente del estereotipo alemán. También era muy inteligente. Había nacido y crecido en Leinefelde, la misma ciudad donde había nacido en 1803 Johann Carl Fuhlrott. Fuhlrott fue el naturalista que en 1857, dos años antes de que Darwin publicara *El origen de las especies*, había sugerido que los huesos encontrados en Neandertal procedían de una forma prehistórica de humanos. Esta fue la primera vez que alguien sugería que habían existido otras formas de humanos antes de los humanos actuales, y a Fuhlrott se le ridiculizó por su idea, pero se demostró que era correcta cuando se desenterraron más neandertales. Fuhlrott acabó siendo profesor de la Universidad de Tubinga en la que hoy, como corresponde, Johannes es profesor.

Johannes había venido a nuestro departamento como licenciado para especializarse en bioquímica. Pronto resultó que no solo era muy bueno en la mesa de trabajo, sino que además tenía buen criterio y comprensión de todos los complejos experimentos que se llevaban a cabo en el grupo. Siempre me había gustado hablar con él, pero a medida que pasaban los meses parecía que solo me traía malas noticias. Ninguno de los muchos extractos que preparó de diversos huesos neandertales contenía nada parecido a la cantidad de DNA neandertal que habíamos visto en Vi-80. La mayoría de ellos, de hecho, no contenían nada de DNA neandertal, o tan poco que apenas podíamos detectar mtDNA neandertal por medio de la PCR. Necesitábamos con urgencia más y mejores huesos.

El lugar obvio para buscarlos era volver al Instituto de Paleontología y Geología del Cuaternario de Zagreb, donde estaban depositadas las colecciones Vindija, incluidos los restos del hueso Vi-80. En abril de 2007 escribí al Instituto de Zagreb. Les decía que estábamos interesados en muestrear de nuevo el hueso que llamábamos Vi-80[1], y quizá otros huesos excavados entre 1974 y 1986 por Mirko Malez en la cueva de Vindija. Por desgracia, me enteré de que Maja Paunović, con quien había trabajado en 1999, había muerto. Ya no había ningún paleontólogo a cargo de la colección. El director del Instituto era Milan Herak, un profesor emérito de geología en la Universidad de Zagreb, que tenía ochenta y nueve años y que rara vez, si es que lo hacía alguna vez, lo visitaba. Una señora mayor que se llamaba Dejana Brajković hacía el trabajo cotidiano, junto con Jadranka Lenardic, su asistente, que era más joven. Les escribí una carta a las dos, explicándoles que me gustaría continuar nuestra fructífera colaboración sobre la colección Vindija, colaboración que ya había dado como resultado tres publicaciones de alto perfil. Les sugerí una visita para discutir el tema y quizá muestrear unos pocos huesos más. Acordamos que visitaría Zagreb y daría un seminario en la Universidad sobre nuestro trabajo. Pero en mayo de 2006, cuatro días antes de que Johannes y yo partiéramos para Zagreb, recibí un correo electrónico diciendo que sería imposible muestrear ninguno de los huesos de la colección Vindija. Los huesos tenían que ser «registrados», decía, y solo después de este hecho, en algún momento indeterminado del futuro, sería posible trabajar con los huesos. Me pareció que había alguien detrás de este repentino cambio de planes. Su carta mencionaba a Jakov Radovčić, un famoso paleontólogo que es el conservador de la enorme colección de huesos neandertales más viejos encontrados en Krapina y depositados en el Museo croata de Historia Natural de Zagreb. Aunque no tenía ninguna autoridad formal sobre la colección Vindija, que pertenece a la Academia croata de Cien-

cias y Artes, sospeché que ejercía una influencia no oficial sobre las dos mujeres del Instituto suficiente como para haber interferido en nuestros acuerdos. Aun así, no quise aceptar un no por respuesta y decidí ir de todas formas. Me parecía que la promesa científica de nuestro proyecto sería suficiente para persuadir a las personas de Zagreb de que nuestro trabajo debía continuar.

Johannes y yo llegamos a Zagreb a principios de junio y fuimos sin más dilación al Instituto, donde, varios años antes, había pasado bastante tiempo con la difunta Maja Paunović. Seguía siendo un lugar bastante polvoriento, no precisamente lleno de energía. Dejana Brajković y su ayudante parecían bastante nerviosas con nuestra visita. Se negaron a dejarnos ver, y menos muestrear, los especímenes y dijeron que tendríamos que consultar con la Academia de las Ciencias y las Artes antes de hacerlo. Pero después de tomar café y charlar con ellas un rato, acabaron permitiéndonos que, al menos, viéramos los huesos. Algunas partes de la colección estaban en desorden, lo cual quizá contribuía a su resistencia a permitirnos que trabajáramos con ella. Me pareció que sería una buena idea hacer un catálogo apropiado de los huesos. Me atrajo especialmente una caja que Tim White, un conocido paleontólogo de la UC de Berkeley, había separado cuando estudió la colección unos años antes. Contenía fragmentos de huesos que el excavador Mirko Malez había creído que eran de osos de las cavernas, pero que Tim consideró que podían venir de neandertales.

Al mirar estos fragmentos de huesos me acordé de algo que Tim me había mencionado cuando nos encontramos en Berkeley un año antes. Todos los huesos neandertales de Vindija estaban reducidos a pequeños fragmentos. Esto es típico de muchos, o incluso de la mayoría, de los lugares en los que se encuentran huesos neandertales. Por supuesto, no es sorprendente que huesos de varios miles de años de antigüedad no estén en buenas condiciones. Pero suele haber marcas de cortes en los huesos en

donde estuvieron sujetos músculos y tendones, así como marcas de cortes en los cráneos. Resumiendo, los esqueletos habían sido descarnados, y los huesos que contenían tuétano aplastados, se supone que para conseguir su contenido nutritivo. Tim me había señalado la semejanza de este patrón de fragmentación de hueso neandertal con un macabro yacimiento anasazi del sudoeste estadounidense, donde alrededor del año 1100 d. C. unos treinta hombres, mujeres y niños habían sido despedazados y cocinados. Me dijo que la manera en que estaban aplastados muchos de los huesos neandertales era semejante a la manera en que estaban aplastados los huesos de animales, como ciervos, que eran despedazados por los neandertales (ver ilustración 12.1[*]). Es probable que nunca sepamos si era habitual que los neandertales mataran y se comieran a otros neandertales o, incluso, si estos cadáveres neandertales podrían haber sido despedazados y quizá ingeridos como parte de algún ritual mortuorio. Pero dado que en algunos yacimientos los esqueletos neandertales se encuentran intactos y, a veces, incluso colocados en posturas que sugieren enterramiento deliberado, parece probable que los neandertales de la cueva Vindija habían tenido tan mala suerte como para caer en manos de vecinos hambrientos.

Curiosamente, el hecho de que los neandertales de Vindija fueran víctimas de canibalismo, o al menos descarnados por otros neandertales, puede explicar el hecho de que hubiéramos encontrado bastante DNA neandertal y en proporción poco DNA bacteriano en al menos algunos de los fragmentos de hueso de Vindija. Si los cadáveres neandertales hubieran sido enterrados, habrían pasado meses antes de que las bacterias y otros microorganismos hubieran consumido sus tejidos blandos. Por tanto, habría habido tiempo suficiente para que las bacterias penetraran en los huesos, degradaran las células neandertales y su DNA, se multiplicaran e incluso murieran ellas mismas. Al extraer DNA de un hueso así se obtendría sobre todo DNA de mi-

croorganismos. Si, por el contrario, los neandertales hubieran sido despedazados, y sus huesos aplastados, roídos y succionados hasta estar desprovistos de cualquier carne o tuétano antes de ser desechados, algunos fragmentos de hueso se habrían secado rápidamente, limitando las posibilidades de que las bacterias se multiplicaran en ellos. Por tanto, podríamos agradecer al canibalismo neandertal el éxito de recuperar DNA en algunos especímenes de Vindija.

Todo esto pasaba por mi cabeza mientras miraba dentro de la caja que contenía huesos tan aplastados que era imposible decir si procedían de animales o neandertales. Pregunté a Dejana Brajković si, al menos, podríamos muestrear algunos de estos fragmentos, cuya procedencia era tan ambigua. Yo sostenía que si había DNA conservado en ellos podríamos determinar de qué especie procedían. Pero Brajković fue inflexible; no podíamos tocar ninguno de los huesos. Dijo que había oído que en pocos años se podría poner un sensor cerca de los huesos y determinar con ello la secuencia de su genoma completo; por ello no era aconsejable sacrificar ni siquiera una parte diminuta de un fragmento de hueso ahora. Estuve de acuerdo en que las técnicas sin duda mejorarían en el futuro, pero expresé con educación mi duda sobre si viviríamos para ver el avance que ella predecía. De nuevo, sospeché de la influencia de poderes superiores a los de ella. Dije que discutiríamos nuestras necesidades con la Academia croata y que seguiríamos en contacto.

Por la tarde, visitamos a Jakov Radovčić en el Museo de Historia Natural. Se mostró receptivo a nuestro proyecto, pero expresó graves reservas sobre el muestreo de cualquier hueso, ya fuera de la colección Krapina o de la Vindija. Estaba seguro de que todavía no habíamos llegado al fondo del problema, y volvimos a nuestra habitación de hotel pequeña y descuidada con el ánimo triste. Me tumbé en la cama, mirando la pintura desconchada del techo y sintiéndome muy frustrado. Por lo que sabía,

se trataba de los huesos que contenían el mejor DNA neandertal del mundo. Muchos de ellos tenían poco o ningún valor morfológico, y estaban tan fragmentados que no se podía decir ni siquiera si procedían de un neandertal, un oso de las cavernas o cualquier otro animal. Aun así, alguna persona desconocida pero con influencia sobre el personal del Instituto estaba decidida, al parecer, a imposibilitarnos que trabajáramos sobre ellos. Como un niño al que se niega su golosina favorita, sentía ganas de gritar y dar patadas, pero mi educación sueca me impidió desahogarme de una manera tan obvia. En su lugar, Johannes y yo pasamos la tarde en un mal restaurante cercano al hotel, rumiando sobre nuestro misterioso enemigo.

Al día siguiente di una charla en la Facultad de Medicina de la Universidad de Zagreb sobre el DNA antiguo en general y sobre nuestro trabajo neandertal en particular. Había buena asistencia, y muchos estudiantes hicieron preguntas. Me animó un poco que algunos jóvenes de Zagreb estuvieran entusiasmados con la ciencia. Por la tarde cenamos con Pavao Rudan, un profesor de antropología en la Universidad, que proviene de una antigua familia de terratenientes en la hermosa isla de Hvar, en la costa del Adriático. Nos invitó a unirnos a él y sus colegas en un restaurante llamado Gallo, que resultó ser uno de los mejores restaurantes en los que he estado nunca. Se sirvieron plato tras plato de excelente marisco y cocina creativa mediterránea, junto con buenos vinos. Se completó la comida con una maravillosa bebida refrescante de zumo de fruta, champán y algún otro ingrediente que no pude descubrir. Me sentí un poco mejor. Entonces, Pavao empezó a hablar de ciencia. Resultó que mi conversación con él había de mejorar mi estado de ánimo de una manera mucha más duradera que la exquisita comida.

Primero hablamos de su trabajo sobre pequeñas poblaciones humanas en las islas croatas. Estaba intentando encontrar genes y rasgos de vida que contribuyeran a enfermedades comunes, co-

mo la alta presión sanguínea y las dolencias cardíacas. Durante muchos años, había tenido becas de Estados Unidos, Francia y el Reino Unido para este proyecto, lo que era prueba de su acreditación científica. Me imaginé que reconocería un buen proyecto cuando escuchara hablar sobre él, así que hablé largo y tendido sobre nuestros planes y nuestros problemas. Pavao escuchó mi alegato con simpatía, y estaba deseando ayudar. Resultó muy importante que supiera moverse por la bizantina política de Croacia. Me dijo que acababa de ser elegido para la Academia Croata de Ciencias y Artes y que pronto sería incluido en ella como miembro. Sugirió que presentáramos el proyecto no solo como una colaboración entre nuestro grupo de investigación y el Instituto de Zagreb en el que estaba la colección Vindija, sino como una colaboración entre la Academia croata y otra academia, una a la que yo perteneciera como miembro.

De hecho, yo era miembro de varias academias oficiales. Estas afiliaciones son honores que yo había considerado, hasta entonces, bastante irrelevantes para mi trabajo científico cotidiano. Nunca asistía a sus reuniones, porque me imaginaba que consistían en discusiones formales a las que asistían estimados científicos bien entrados en años. Pero ahora, de repente parecían importantes. ¿A qué academia debíamos dirigirnos? Sugerí la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos, quizá la más prestigiosa academia a la que pertenezco, pero Pavao nos aconsejó que no lo hiciéramos. Nos aconsejó que mejor nos dirigiéramos a alguna academia alemana. Nos fijamos entonces en la Academia de Ciencias y Humanidades de Berlín-Brandeburgo, a la que yo pertenecía desde 1999. Sugirió que me dirigiera al presidente de la Academia de Berlín y le pidiera que escribiera al presidente de la Academia croata para proponerle nuestro proyecto como colaboración. También me aconsejó que esperara unas semanas, hasta que él hubiera sido investido como miembro de la

Academia croata. Junto con otros miembros simpatizantes, podría entonces hablar bien del proyecto ante su presidente.

A la mañana siguiente, Johannes y yo volamos de vuelta a Leipzig. Me sentía un poco más optimista. No traíamos los huesos, como había esperado, y seguía siendo un reto persuadir a la Academia croata de que trabajar con nosotros sería muy interesante para la ciencia. Pero, con la ayuda de Pavao, podríamos tener una posibilidad.

De vuelta a casa, llamé por teléfono enseguida a Günter Stock, presidente de la Academia de Brandeburgo-Berlín. Escuchó atentamente y estuvo dispuesto a ayudar; le gustó la idea de estrechar lazos con Croacia. Con la ayuda de su asistente para relaciones internacionales, redacté un borrador de carta para el presidente de la Academia croata, en la que el presidente de la Academia de Berlín proponía el proyecto del genoma neandertal como colaboración entre las dos academias. También sugerimos que estaríamos deseosos de ayudar para hacer un catálogo de la colección Vindija donando un ordenador y recursos para que alguien hiciera el trabajo.

Pero no lo dejé así: quería hacer todo lo que pudiera para vencer la misteriosa resistencia de Zagreb. Una manera de hacerlo sería implicando a todas las partes relevantes en el proyecto. Así que escribí a Jakov RadovčiĆ y le invité a la próxima conferencia de prensa con 454 en el mes de julio, proponiéndole que fuera él quien presentara los aspectos paleontológicos de los neandertales a la prensa. Contestó diciendo que tenía otras obligaciones que le hacían imposible asistir. También me puse en contacto con Frank Gannon, director de EMBO (European Molecular Biology Organization), la Organización Europea de Biología Molecular, a la que yo también pertenecía, pidiéndole que se pusiera en contacto con Dragan Primorac, ministro croata de ciencia, educación y deporte, de parte nuestra. Dragan Primorac es un político inusual. Es profesor de Medicina forense en la Uni-

versidad de Split, en Croacia, así como profesor adjunto asociado de la Penn State University de Estados Unidos. Dragan, que desde entonces es amigo mío, contestó que daría buenos informes de nuestro proyecto a la Academia. No tenía ni idea de si todas estas iniciativas ayudarían a nuestro proyecto, pero no quería dejar piedra sin remover.

Mientras tanto, la carta del profesor Stock de parte de la Academia de Brandeburgo-Berlín proponiendo formalmente el proyecto neandertal, así como una carta mía, habían llegado a la Academia de Zagreb. Pavao Rudan, preguntado por sus colegas sobre su opinión, sugirió algunas condiciones para la colaboración propuesta: por lo menos un coautor croata debería aparecer en todos los papeles que publicáramos sobre el material de Vindija, la Academia croata debería figurar en los agradecimientos, y al menos dos científicos croatas deberían ser invitados a Leipzig cada año mientras durara el proyecto. Me mostré de acuerdo con estas condiciones y añadí que, junto con la Academia de Berlín, respaldaríamos la confección del catálogo de la colección Vindija.

Todo esto llevó tiempo. El verano se convirtió en otoño, y el otoño en invierno. Mientras tanto yo buscaba otros yacimientos neandertales prometedores, concentrándome en lugares donde nuestro trabajo anterior había mostrado que se había conservado DNA. El primero y más obvio era el yacimiento del valle de Neander mismo, donde se había encontrado el espécimen tipo en 1856. En aquel momento, la cueva no había sido excavada de modo científico, sino que fue vaciada por unos picapedreros que habían recogido huesos cuando por casualidad los encontraban. Desde entonces, toda la cueva, así como la pequeña montaña en la que estaba situada, había sido explotada como cantera de piedra caliza. Por desgracia, muchos de los huesos del espécimen tipo nunca habían sido recogidos. Unos años antes, Ralf Schmitz, con quien habíamos trabajado en el espécimen tipo, había tenido

la loca pero brillante idea de intentar encontrar los huesos que faltaban. Después de una penosa investigación sobre viejos mapas, largas caminatas por el valle de Neander y con una gran dosis de intuición, se las había arreglado para encontrar el yacimiento, entonces parcialmente bajo un garaje y un taller de reparación de coches, donde habían sido depositados todos los desechos de la cueva 150 años antes. Inició una excavación y sus esfuerzos le premiaron con generosidad, ya que no solo encontró fragmentos del individuo espécimen tipo, sino además huesos de un segundo individuo. En 2002, recuperamos DNA de este individuo y lo publicamos con Ralf[2]. Ahora Johannes volvió a los trocitos de muestras que nos habían quedado e hizo nuevas extracciones de DNA, analizándolas con nuestros nuevos métodos para buscar DNA nuclear. Los resultados fueron decepcionantes. Los extractos contenían entre 0,2 y 0,5% de DNA neandertal, insuficiente para secuenciar el genoma.

Otro yacimiento, la cueva de Mezmaiskaya en el Cáucaso noroccidental, había sido excavada por una pareja de arqueólogos, Lubov Golovanova y Vladimir Doronichev, que tenían su base en San Petersburgo, Rusia. Habían encontrado restos de un niño neandertal. Este niño quizá había sido enterrado deliberadamente, y no consumido, porque sus huesos estaban intactos y se encontraban en las posturas que eran de esperar. Un aspecto emocionante de este niño es que mientras que los neandertales que habíamos analizado hasta entonces tenían unos 40 000 años de antigüedad, este niño tenía entre 60 000 y 70 000 años. Lubov y Vladimir habían visitado nuestro Instituto, trayendo consigo un trocito de costilla del niño para que lo analizáramos, y también un fragmento de un cráneo neandertal hallado en un estrato más alto de la cueva. Cuando Johannes hizo extractos de estos especímenes, resultó que la costilla contenía 1,5% de DNA neandertal. Seguía sin ser tanto como habíamos esperado; es más, la costilla era tan diminuta que nunca podríamos haber esperado con-

seguir suficiente DNA para una secuencia de genoma a partir de ella. Pero pudo aportar algunos datos a nuestros esfuerzos.

El tercer yacimiento que exploramos, El Sidrón, estaba en Asturias, en el noroeste de España. Lo visité en septiembre de 2007. Cuando un niño sueña con convertirse en paleontólogo, este es el tipo de yacimiento que imagina. El Sidrón está situado en un paraje rural hermosísimo. La entrada de la cueva es pequeña y escondida, y la cueva ha servido como refugio a personas a lo largo de los siglos. Enfrente de la entrada está el monumento a un luchador que se escondió allí durante la Guerra Civil española y fue asesinado por los fascistas. Después de arrastrarse por la entrada hay que caminar unos doscientos metros hasta llegar a una galería lateral a la derecha, de veintiocho metros de largo y doce metros de ancho. Allí, el profesor Marco de la Rasilla, de la Universidad de Oviedo, y sus colaboradores y estudiantes excavan cada verano (ver ilustraciones 12.2[*] y 12.3[*]). Han encontrado huesos de un bebé, un niño, dos adolescentes y cuatro adultos jóvenes neandertales. Los huesos largos estaban aplastados y llenos de marcas de cortes. Solo los huesos de las manos se encontraron juntos; habían sido separados de los cuerpos y tirados a un lado. Marco de la Rasilla cree que las partes del cuerpo fueron arrojadas a un pequeño estanque en la superficie exterior hace unos 43 000 años y luego arrastradas por el agua dentro de la cueva.

Cada verano se descubrían nuevos huesos en este yacimiento, y estuvimos de acuerdo con que habrían de ser recogidos para el análisis de DNA de tal forma que se maximizara la conservación de DNA y se minimizara la posibilidad de contaminación por DNA humano actual. Trabajando con Carles Lalueza-Fox, un biólogo molecular de la Universidad de Barcelona, y Antonio Rosas, un paleobiólogo del Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid, los excavadores estaban equipados con guantes estériles, ropa, escudos faciales y otros instrumentos usados coti-

dianamente en nuestro cuarto limpio. Cuando se encontraban con huesos considerados adecuados para la extracción de DNA, se colocaban la indumentaria estéril, sacaban los huesos y los ponían directamente en una nevera para congelarlos. De vuelta al laboratorio de Antonio en Madrid, se llevaba a cabo la tomografía computarizada de los huesos para documentar su morfología. Entonces, aún congelados, se nos enviaban los huesos a Leipzig. Casi nadie los había tocado desde que se habían encontrado, y el crecimiento bacteriano también había sido minimizado. Tenía grandes esperanzas en que cuando Johannes hiciera extractos, contendrían mucho DNA neandertal, pero de todo el DNA de los huesos, solo entre 0,1 y 0,4% procedía de neandertales. En ninguno de estos yacimientos, ni en varios más que habíamos probado con menos suerte todavía, encontramos suficiente DNA para una secuencia del genoma neandertal. La cueva de Vindija era el único yacimiento de todos donde hasta entonces habíamos encontrado un hueso que tenía casi suficiente DNA. Y en Zagreb las cosas avanzaban a paso de tortuga, o no avanzaban nada.

Un momento esperanzador fue la llegada, en el verano de 2006, de un talentoso estudiante croata, Tomislav MariČiĆ, a nuestro grupo. Tomi nos había acompañado cuando visitamos el Instituto de Paleontología y Geología del Cuaternario, y sus contactos culturales con Croacia nos fueron prácticos cuando intentamos llegar a un acuerdo sobre los neandertales croatas. Nuestro proyecto se había convertido en un asunto de debate público allí, debate que pude seguir gracias a las traducciones que Tomi me hacía de los periódicos croatas. En julio, después de que hubiéramos anunciado el Proyecto del Genoma Neandertal en la conferencia de prensa de Leipzig, uno de los diarios importantes, el *Jutarnji List*, entrevistó a Jakov RadovČiĆ, que era descrito como alguien «sin el cual no puede imaginarse una investigación neandertal». Jakov decía:

> La cuestión es: ¿cuál es la meta de la investigación? También, todavía no está claro que se pueda recuperar todo el genoma neandertal… están usando un método químicamente agresivo que destruye el material, que es demasiado precioso como para que lo sacrifiquemos.

En noviembre, el mismo periódico volvía a citarle:

> Hace tres meses y medio, Svante Pääbo estuvo en Zagreb buscando más muestras para su análisis genético molecular… Sin embargo, creo que deberíamos tener especial cuidado con las muestras y mantenerlas a salvo, para que la próxima generación de investigadores pueda utilizarlas.

Incitado por estas observaciones, envié a Jakov un correo electrónico largo y educado en el que una vez más explicaba nuestro proyecto. Contestó que después de algunos trámites de conservación que podrían ocupar «varias semanas o algunos meses» «apoyaría con fuerza» nuestro proyecto. Mientras tanto, los rumores volaban por doquier en Zagreb. Era frustrante que ni siquiera tuviera claro quién apoyaba y quién estaba en contra del proyecto, qué había dicho cada cual, y si las personas querían decir en realidad lo que me decían en persona. Las únicas personas en las que tenía una sólida confianza eran Pavao Rudan y dos amigos suyos, ambos miembros de la Academia croata de Ciencias y Artes, que nos apoyaban. Uno de ellos era Željko Kučan, un científico y hombre de estado con aplomo y criterio que había sido el primero en introducir el estudio del DNA en la Universidad de Zagreb, unos cincuenta años antes. El otro era un geólogo llamado Ivan Gušić, conocido por sus amigos como «Johnny». Jovial, positivo y siempre amistoso, Johnny se convertiría pronto en el nuevo director del Instituto de Paleontología y Geología del Cuaternario (ver ilustración 12.4[*]).

A finales de noviembre, Pavao aprovechó la ocasión de la publicación de nuestros artículos en *Nature* y *Science* para tomar postura pública a nuestro favor. Escribió un artículo sobre el proyecto en la edición dominical de *Vjesnik*, el periódico croata de referencia, insistiendo en que los estudios sobre DNA podían revelar muchas cosas de la evolución humana y que el material de Vindija era esencial para ello. «Por tanto, la cooperación con

los colegas del Max Planck debería continuarse y fortalecerse», argumentaba.

> Son las muestras de Vindija que se guardan en una colección de la HAZU [acrónimo en croata de la Academia] las que pueden hacer posible la recuperación del genoma de un homínido del Pleistoceno por primera vez en la historia […] La cooperación futura entre HAZU y [la] Academia de Berlín-Brandeburgo, sobre todo con el equipo de Svante Pääbo, mejorarán la ciencia paleo-antropológica, genética molecular y antropológica.

Deseaba sinceramente que nuestro trabajo acabara por demostrar que Pavao no se había equivocado confiando en nosotros.

Poco a poco la corriente croata cambió a nuestro favor. El 8 de diciembre de 2006, después de muchas vicisitudes, la mayoría de ellas incomprensibles, se firmó un memorándum de acuerdo entre las Academias de Zagreb y Berlín. ¡Qué alivio! Por fin, nada se interponía entre los huesos y nosotros. Tan pronto como fue posible, dispuse una visita a Zagreb con Johannes y Christine Verna, una joven paleontóloga francesa del departamento de evolución humana de nuestro Instituto de Leipzig que iba a pasar diez días en el Instituto de Paleontología y Geología del Cuaternario haciendo un catálogo preliminar de todos los huesos neandertales de la colección Vindija. Johannes y yo estuvimos cuatro días en Zagreb y luego volvimos a Leipzig en compañía de Pavao, Željko y Johnny, que traían ocho huesos de Vindija en bolsas estériles, incluido el celebrado Vi-80, ya oficialmente conocido como Vi-33.16 (ver ilustración 12.1[*]).

Llegamos tarde por la noche. Lo primero que hicimos la mañana siguiente fue llevar los huesos al departamento de evolución humana, donde, aún en sus bolsas, fueron escaneados por tomografía computarizada para conservar en formato digital para siempre su morfología. Luego, los huesos pasaron al cuarto limpio, y Johannes se hizo cargo de ellos.

Utilizando una fresa dental con un extremo esterilizado, sacó dos o tres milímetros cuadrados de la superficie de cada hueso. Luego fresó un pequeño orificio en la parte compacta de cada

hueso, haciendo pausas frecuentes para evitar que el hueso se calentara y se dañara el DNA (ver ilustración 12.5[*]), Recogió unos 0,2 gramos de hueso, añadiéndolo a una solución que en unas pocas horas se ligó al calcio de los huesos. Lo que quedó entonces del hueso fue una bola de proteínas y otros componentes de su parte no mineral. Sin embargo, el DNA estaba en la parte líquida disuelta, y Johannes la purificó, dejándolo ligarse a sílice, la técnica que había descubierto Matthias Höss, catorce años antes, como especialmente buena para aislar el DNA de los huesos antiguos.

Para hacer que las moléculas de DNA fueran susceptibles de ser secuenciadas por la empresa 454, Johannes utilizó enzimas para rellenar y descartar cualquier DNA de cadena sencilla desprendido del final de las moléculas. Esto le permitía utilizar una segunda enzima para fusionar piezas cortas sintéticas de DNA moderno, llamadas adaptadores, a los extremos del DNA antiguo. Después de que se han añadido los adaptadores a los extremos del DNA antiguo, pueden ser «leídos» por máquinas de secuenciación igual que libros, por lo que una colección de ellos se llama librería. Los adaptadores habían sido sintetizados especialmente para este proyecto, y contenían una secuencia corta adicional de cuatro bases, TGAC, dispuesta de manera que coronara los antiguos fragmentos como una especie de marcador o etiqueta. Este fue uno de esos pequeños detalles técnicos que a menudo constituyen una enorme diferencia en biología molecular en general y en la investigación del DNA antiguo en particular. Habíamos introducido estas etiquetas porque nuestra librería de DNA antiguo tenía que dejar el cuarto limpio para ser secuenciada en la máquina 454. Para asegurar que el DNA de otras librerías de nuestro laboratorio no acabara de alguna manera en las librerías neandertales, utilizamos estos adaptadores especiales y confiábamos solo en las secuencias que empezaban por TGAC.

Esta innovación de adaptador fue descrita en un artículo en 2007[3].

Utilizando estos procedimientos, Johannes preparó extractos y librerías de los ocho huesos nuevos de Vindija. Luego utilizó la PCR para ver si había mtDNA neandertal en los extractos y valorar la cantidad de contaminación de humano moderno. Casi todos los huesos contenían mtDNA neandertal. Era alentador, pero después de los desengaños con los huesos de Rusia, Alemania y España, no me permitía muchos entusiasmos. Secuenciamos enseguida una muestra al azar de fragmentos de DNA de cada una de las librerías para medir su proporción de DNA nuclear neandertal, y durante los escasos días que llevó conseguir los resultados apenas pude concentrarme en ningún otro trabajo mío. Habíamos anunciado al mundo que secuenciaríamos el genoma neandertal. Si estos huesos nuevos de Vindija no contenían suficiente DNA nuclear para hacerlo, tenía claro que tendríamos que anunciar nuestro fracaso. Ya no sabía dónde buscar mejores huesos.

Cuando estuvieron los resultados, mostraron que algunos de los huesos contenían entre 0,06 y 0,2% de DNA nuclear neandertal, semejante a lo que habíamos visto en otros yacimientos. Pero tres de los huesos contenían más de 1% de DNA nuclear neandertal, y uno de ellos contenía casi 3%. Este era nuestro hueso favorito Vi-33.16, también llamado Vi-80. No habíamos encontrado el hueso mágico con enormes cantidades de DNA nuclear neandertal que nos hubiera gustado, pero era un hueso con el que podíamos trabajar.

No todo estaba perdido.

CAPÍTULO 13

EL DIABLO ESTÁ EN LOS DETALLES

Durante las vacaciones de Navidad y Año Nuevo utilicé mi tiempo libre para calibrar nuestra situación. Era una situación seria. Cuando calculé qué cantidad necesitaríamos de estos huesos para completar la secuenciación del genoma, me salían decenas de gramos, más que todo el peso de los huesos que teníamos. Me sentí muy mal. ¿Había sido demasiado optimista, o ingenuo, por pensar que podíamos hacerlo? ¿Había sido temerario al pensar que encontraríamos un hueso de la cueva de Vindija que contuviera más DNA neandertal que los primeros que habíamos analizado? ¿Había confiado demasiado en que la empresa 454 llegaría mágicamente con máquinas de secuenciación más poderosas que de alguna manera nos permitirían secuenciar más? ¿Por qué había arriesgado mi vida científica tranquila y ordenada en esta apuesta, que ahora parecía que era más que probable que perdiera?

Mis veinticinco años en la biología molecular habían sido en esencia una continua revolución técnica. Había visto aparecer en el mercado máquinas de secuenciar DNA que convertían en tarea de una noche los esfuerzos que me habían llevado días y semanas cuando era estudiante de posgrado. Había visto la engorrosa clonación de DNA en bacterias ser reemplazada por la PCR, que conseguía en horas lo que antes nos llevaba semanas o meses. Quizá era esto lo que me había llevado a pensar que en un año o dos seríamos capaces de secuenciar tres mil veces más DNA de lo que habíamos presentado en el artículo de *Nature*. Por otra parte, ¿por qué no había de continuar la revolución tecnológica? Había aprendido con los años que, a menos que una persona fuera muy muy inteligente, los avances se buscaban mejor cuando llevaban aparejadas mejoras tecnológicas. Pero esto no suponía que fuéramos solo prisioneros esperando el rescate de

la próxima revolución técnica. Quizá, pensé, podíamos ir ayudando un poco a la tecnología.

Pensé que ya que teníamos tan poco hueso, y como contenía tan poco DNA, necesitábamos minimizar las pérdidas de DNA en la extracción de la librería. En nuestra primera reunión de viernes después del descanso de las vacaciones intenté inculcar al grupo una sensación de crisis aguda. Les dije que ahora estaba claro que no íbamos a encontrar un hueso mágico que nos salvara porque contuviera grandes cantidades de DNA neandertal. Teníamos que hacerlo con lo que teníamos, y eso suponía replantearse cada paso que dábamos en el laboratorio. Les comenté que probablemente las pérdidas eran enormes. Por ejemplo, los procedimientos utilizados para purificar el DNA producían soluciones que contenían solo cantidades diminutas de otros componentes, como proteínas. Pero el precio de esta pureza es la pérdida de mucho DNA. Si pudiéramos minimizar esas pérdidas, quizá los huesos que teníamos serían suficientes, al menos hasta que 454 Life Sciences tuviera listas sus nuevas máquinas, más eficaces.

Interrogaba a mi grupo semana tras semana preguntándoles repetidamente sobre cada paso que daban en el laboratorio. Quizá la estrategia de volver una y otra vez sobre las mismas preguntas era algo que había retenido de mi instrucción como interrogador de prisioneros de guerra durante mi, por otra parte, olvidado servicio militar en Suecia durante mi juventud. Cuanto más preguntaba, más sospechaba que los protocolos recomendados por 454 para preparar las librerías de secuenciación, que insistían mucho en la purificación, podían conducir a una pérdida indebida de DNA. Insistí en qué debíamos analizar sistemáticamente cada paso. ¿Cómo podíamos hacerlo mejor?

Cuando era estudiante de posgrado, el uso de la radiactividad era primordial en casi todos los experimentos de biología molecular, pero las engorrosas precauciones de seguridad requeridas

habían recomendado desde hacía mucho tiempo a los biólogos utilizar ensayos no radiactivos. Como consecuencia, los estudiantes de biología de hoy en día casi no tienen experiencia de trabajar con radiactividad. Sin embargo, el etiquetado radiactivo sigue siendo una de las maneras más sensibles de detectar cantidades diminutas de DNA. Por ello, en una de nuestras reuniones de los viernes, sugerí que Tomi MariČiĆ etiquetara una pequeña cantidad de DNA con fósforo radiactivo y lo utilizara para preparar una librería de secuenciación. A continuación podía recoger las fracciones que solían descartarse y medir lo radiactivas que eran. La cantidad de radiactividad que detectara en una fracción mediría directamente la pérdida de DNA en cada paso.

Di por sentado que el silencio que acogió esta idea en nuestra reunión de viernes era un tributo a la elegancia de este enfoque. Pero en realidad me había topado de bruces con un aspecto del funcionamiento de nuestro grupo. Este aspecto es, creo, una de sus mayores virtudes, pero a veces muestra una debilidad. He fomentado una cultura en la que se discuten todas las ideas; se espera que todos los asistentes a la reunión expresen su punto de vista, y al final intentamos llegar a un consenso sobre lo que hay que hacer. Pero, como en cualquier democracia, a veces, las ideas irracionales se llevan el gato al agua. Mi plan de radiactividad suscitó el escepticismo de varias personas influyentes del grupo. Plantearon una serie de objeciones, inspirados (pensé) por una resistencia inconsciente a adoptar un método en el que tenían poca experiencia y que sonaba anticuado e inseguro, cuando no peligroso. Decidí no forzar la decisión. Se intentaron otros métodos en su lugar, como medir las cantidades de DNA en cada paso de la preparación de la librería y utilizar estudios más modernos basados en la PCR. Pero estos métodos o no eran lo bastante sensibles o resultaron ineficaces por otras razones. A lo largo de los siguientes seis meses, seguí recomendando el experimento de la radiactividad, mientras crecía mi impaciencia, año-

rando a veces tiempos más autoritarios en los que la palabra del profesor era ley. Pero seguí cediendo, porque no quería enfriar el libre intercambio de ideas que me parecía tan valioso en el grupo.

Por fin, cuando todos los demás esfuerzos hubieron desembocado en la nada, fue el grupo el que cedió. Tomi encargó de mala gana un poco de fósforo radiactivo, etiquetó un poco del DNA humano ordinario que usábamos para los test, y siguió los pasos de preparación de una librería de secuenciación de 454. Los resultados fueron asombrosos. Probó que en cada uno de los tres pasos principales de la preparación se perdía un porcentaje de entre el 15 y el 60% del DNA, cantidad no del todo inesperada en una separación bioquímica. Pero en el último paso, en el que las cadenas complementarias de DNA se separan por medio de una fuerte solución alcalina, ¡se perdía más del 95% del DNA inicial! Otros que utilizaban este método de separación con DNA moderno ordinario no se habían dado cuenta de su ineficacia, porque disponían de tanto DNA que estas enormes pérdidas no les importaban. Pero para nuestro trabajo con DNA antiguo eran catastróficas. Una vez que se identificó el problema, se diseñó un sencillo remedio. Las soluciones alcalinas no son la única manera de separar las cadenas de DNA; también se separan cuando se calientan. Así que Tomi intentó calentarlas, y encontró ¡entre 10 y 250 veces más radiactividad en la preparación final de DNA! Se trataba de un gran avance que, desde luego, cambiaba las reglas del juego.

La mayoría de los laboratorios desechan los restos de muestras como subproductos. Nosotros, por fortuna, habíamos conservado todas las nuestras de nuestros experimentos previos. Durante años había insistido en hacerlo así, no fuera que sucediera algo que las hiciera valiosas. Esta fue sin duda una de mis ideas menos populares, y provocó que muchos congeladores se llenaran de restos de muestras congeladas que nadie pensaba que se usarían

alguna vez. Pero por suerte en este caso el grupo había compartido la loca idea del profesor. Por tanto, ahora Tomi podía calentar los restos de muestras de preparaciones anteriores de librerías de huesos de Vindija y recuperar cantidades adicionales y relativamente copiosas de DNA neandertal sin siquiera tener que llevar a cabo más extracciones. También optimizó otros pasos de la preparación de la librería. Estos cambios dieron como resultado un protocolo varios cientos de veces más eficaz en la transformación del DNA extraído en una librería lista para la secuenciación[1].

Tras consultarlo con nuestros colegas croatas, dedicamos al proyecto tres huesos de Vindija: Vi-33.16 y dos nuevos huesos, Vi-33.25 y Vi-33.26. Todos parecían ser fragmentos de huesos largos que en apariencia habían sido aplastados para conseguir el tuétano (ver ilustración 12.1[*]). Gracias al avance de Tomi, en principio ahora podíamos crear librerías que contuvieran 3000 millones de nucleótidos de DNA neandertal solo a partir de esos tres huesos. Pero las librerías seguirían conteniendo al menos un 97% de DNA bacteriano, así que el personal de Bradford (454 Life Sciences) necesitaría hacer entre cuatro mil y seis mil sesiones con sus máquinas de secuenciar para llegar a 3000 millones de pares de bases de DNA neandertal. Esto era mucho más de lo que nunca podíamos imaginar que convenceríamos a Michael Egholm para que hiciera.

Me parecía que seguíamos atrapados, hasta que alguien sugirió que quizá podíamos encontrar resquicios en nuestros tres huesos que contuvieran mucho menos DNA bacteriano y por tanto, en términos relativos, más DNA neandertal. Desde luego, a lo largo de los años habíamos visto una y otra vez indicios de que algunas partes del hueso podían contener mayores cantidades de DNA bacteriano que otras, quizá porque las bacterias habían encontrado mejores condiciones para crecer en una parte del hueso, y por tanto se habían multiplicado más allí que en otras par-

tes. Así que, animado por esta esperanza, Johannes intentó identificar de forma sistemática las mejores regiones para su muestreo. Fresó los huesos hasta que parecían flautas, y luego parecían un queso suizo. También encontró una diferencia de porcentaje de DNA neandertal 10 veces mayor en zonas separadas solo de un centímetro, pero las mejores zonas aún contenían un porcentaje de ¡no más del 4% de DNA neandertal!

Volvíamos a este problema una y otra vez en nuestras reuniones de los viernes. Para mí, estas reuniones eran experiencias apasionantes tanto desde el punto de vista social como intelectual: los estudiantes de grado y los posdoctorandos saben que sus carreras dependen de los resultados que consigan y los artículos que publiquen, así que siempre hay cierta dosis de competencia por una oportunidad de trabajar en los experimentos clave y evitar los que pueden servir al objetivo del grupo, pero que quizá no supondrán una autoría relevante en una publicación importante. Me había acostumbrado a la idea de que los científicos en ciernes se guiaban sobre todo por el interés propio, y reconocía que mi función era lograr un equilibrio entre lo que era bueno para la carrera de alguien y lo que era necesario para un proyecto, sopesando las capacidades individuales al respecto. Pero, a medida que la crisis neandertal se cernía sobre el grupo, me asombró ver con qué velocidad la dinámica egocéntrica daba paso a otra centrada en el grupo. El grupo estaba funcionando como una unidad, con todos interesados en presentarse como voluntarios para tareas ingratas y laboriosas que harían avanzar el proyecto con independencia de si esas tareas traían consigo alguna gloria personal. Había una fuerte sensación de objetivo común en lo que todos sentían como un esfuerzo histórico. Sentí que teníamos el equipo perfecto (ver ilustración 13.1[*]). En mis momentos más sentimentales sentía cariño por cada una de las personas alrededor de la mesa. Esto hacía tanto más amarga la sensación de que no alcanzábamos ningún progreso.

Durante la primavera de 2007, las reuniones de los viernes continuaron mostrando la cohesión de nuestro grupo desde su mejor perfil. La gente lanzaba una idea loca tras otra para incrementar la proporción de DNA neandertal o para encontrar microscópicos orificios en los huesos en los que la conservación pudiera ser mejor. Era casi imposible decir de quién salía cada idea, porque se generaban en tiempo real, durante discusiones continuas a las que contribuían todos. Empezábamos a hablar de maneras de separar el DNA bacteriano de nuestros extractos del DNA neandertal endógeno; ¿quizá el DNA bacteriano difería del DNA neandertal en algún rasgo que podíamos explotar con este fin, quizá una diferencia de tamaño entre los fragmentos de DNA bacteriano y neandertal? Por desgracia, no. El tamaño de los fragmentos de DNA bacteriano en los huesos era en gran medida indistinguible del de DNA neandertal.

Nos preguntamos una y otra vez qué diferencias podía haber entre el DNA de bacterias y el de mamíferos. Y de repente se me ocurrió: ¡la metilación! Los grupos metilo son pequeñas modificaciones químicas que son comunes en el DNA bacteriano, sobre todo en los nucleótidos A. En el DNA de los mamíferos, sin embargo, se metilan los nucleótidos C. Quizá podríamos usar anticuerpos para enlazar las A metiladas y separar el DNA bacteriano de los extractos. Los anticuerpos son proteínas producidas por las células inmunes cuando detectan sustancias extrañas al cuerpo, por ejemplo, DNA de bacterias o virus. Los anticuerpos circulan entonces por la sangre, se enlazan con gran fuerza a las sustancias extrañas allá donde las encuentran y ayudan a eliminarlas. Por su capacidad para enlazarse específicamente a sustancias a las que han estado expuestas células inmunes, los anticuerpos pueden usarse como poderosas herramientas de laboratorio. Por ejemplo, si el DNA que contiene nucleótidos A metilados es inyectado en ratones, sus células inmunes reconocerán que las A metiladas son extrañas y crearán anticuerpos contra ellas. Estos

anticuerpos pueden ser purificados de la sangre de los ratones y usados en laboratorio, y pensé que deberíamos hacer estos anticuerpos y luego intentar usarlos para enlazar y eliminar el DNA bacteriano de nuestros extractos de DNA.

Una rápida investigación en publicaciones nos reveló que los investigadores de una empresa, New England Biolabs, en las afueras de Boston, ya habían producido anticuerpos para A metiladas. Le escribí a Tom Adams, un excelente científico interesado en la reparación de DNA que trabajaba allí, y nos envió amablemente un suministro. Ahora quería que alguien del grupo los usara para enlazarlos al DNA bacteriano y sacarlo de los extractos. Pensé que haciendo eso nos dejaría extractos en los que el porcentaje de DNA neandertal fuera mucho mayor. Consideré que era un plan ingenioso. Pero cuando lo presenté en nuestra reunión semanal, la gente parecía escéptica, de nuevo, me pareció que a causa de su poca familiaridad con la técnica. Esta vez, reforzado por el hecho de que había tenido razón con la radiactividad, insistí un poco más. Adrian Briggs se hizo cargo de ello. Se pasó meses intentando conseguir que los anticuerpos se enlazaran al DNA bacteriano y lo separara del DNA no bacteriano. Intentó todo tipo de modificaciones de la técnica. Nunca funcionó y todavía no sabemos por qué. Durante algún tiempo, tuve que oír comentarios jocosos sobre mi maravillosa idea de los anticuerpos.

¿Qué más podíamos intentar para eliminar el DNA bacteriano? Una idea era identificar motivos de la secuencia que aparecieran a menudo entre nuestras secuencias bacterianas. Quizá podríamos entonces usar hebras sintéticas de DNA para enlazarse específicamente y retirar el DNA bacteriano de una manera semejante a la que había imaginado para los anticuerpos. Kay Pruefer, un estudiante de ciencia informática, de hablar sosegado, que después de venir a nuestro laboratorio había aprendido más biología del genoma de la que saben la mayoría de estudian-

tes de biología, buscó motivos de secuencia potencialmente útiles. Encontró que algunas combinaciones de solo dos a seis nucleótidos —como CGCG, CCGG, CCCGGG, etc.— estaban presentes con mucha más frecuencia en el DNA microbiano que en el DNA neandertal. Cuando presentó su observación en una reunión, tuve claro de inmediato lo que estaba pasando. ¡Y tendría que haberme dado cuenta antes! Cualquier libro de texto de biología molecular te dirá que la combinación de nucleótidos de C seguida de G es muy poco frecuente en el genoma de los mamíferos. La razón es que la metilación en los mamíferos solo se da en los nucleótidos C cuando van seguidos de nucleótidos G. Estas C metiladas pueden ser modificadas químicamente y malinterpretadas por las polimerasas del DNA, por lo que mutan a T. El resultado es que a lo largo de millones de años los genomas de mamíferos han sido lenta pero constantemente vaciados de motivos CG. En las bacterias, esta metilación de C no se da, o es rara, por lo que los motivos CG son más comunes.

¿Cómo podíamos usar esta información? La respuesta a esta pregunta también se nos hizo obvia de inmediato. Las bacterias hacen enzimas, las llamadas enzimas de restricción, que cortan, en el interior o en las proximidades de la secuencia de DNA, motivos específicos (como CGCG o CCCGGG). Si incubáramos en las librerías neandertales una colección de estas enzimas, triturarían muchas de las secuencias bacterianas para que no pudieran ser secuenciadas, pero dejarían intactas la mayoría de las secuencias neandertales. Así inclinaríamos la ratio del DNA neandertal con respecto al bacteriano a nuestro favor. Basándose en sus análisis de las secuencias, Kay sugirió cócteles de hasta ocho enzimas de restricción que serían especialmente efectivos. Tratamos enseguida una de nuestras librerías con esta mezcla de enzimas y la secuenciamos. De nuestra máquina de secuenciar salió aproximadamente ¡un 20% de DNA neandertal en lugar de un 4%! Esto significaba que necesitábamos solo unas setecientas se-

siones de las máquinas de Branford para alcanzar nuestra meta, una cifra dentro del ámbito de lo posible. Este pequeño truco fue lo que hizo posible lo imposible. El único inconveniente era que el tratamiento de enzimas nos causaría la pérdida de algunas secuencias neandertales —las que llevaban series particulares de C y G— pero podíamos recuperar estas secuencias utilizando diferentes mezclas de enzimas en diferentes sesiones y haciendo algunas sesiones sin ninguna enzima. Cuando presentamos nuestro truco de la enzima de restricción a Michael Egholm de la empresa 454, lo calificó de brillante. Por primera vez, sabíamos que en principio podíamos alcanzar nuestra meta.

Mientras ocurría todo esto, apareció un artículo de Jeffrey Wall, un genetista poblacional de San Francisco con el que había coincidido en varias ocasiones. Comparaba los 750 000 nucleótidos que nuestro grupo había determinado por secuenciación de la empresa 454 a partir de los huesos Vi-33.16 y que habíamos publicado en *Nature*, con los 36 000 nucleótidos que Eddy Rubin había determinado por clonación bacteriana a partir de nuestros extractos del mismo hueso y que se había publicado en *Science*. Wall y su coautor, Sung Kim, señalaban varias diferencias en los grupos de datos, muchas de las cuales ya habíamos visto y discutido extensamente cuando los dos artículos estaban en revisión. Sugerían que podría haber varios problemas posibles con los datos de 454, pero se mostraban a favor de la interpretación de que había enormes cantidades de contaminación humana moderna en nuestra librería. En particular, sugerían que entre 70 y 80% de lo que habíamos pensado que era DNA neandertal era en cambio DNA humano moderno[2].

Esto era alarmante. Éramos conscientes de que podíamos tener alguna contaminación en los grupos de datos tanto de *Nature* como de *Science*, ya que habíamos enviado los extractos a laboratorios que no trabajaban bajo condiciones de cuarto limpio. También éramos conscientes de que si había una diferencia en los

niveles de contaminación estos serían más altos en el grupo de datos de *Nature* producidos en la empresa 454. Sin embargo, estábamos seguros de que los niveles de contaminación no podían ser de un 70 a un 80%, porque los análisis de Wall se basaban en suposiciones, como un contenido similar de GC en los fragmentos cortos y largos, que sabíamos que no eran ciertas.

En un intento de clarificar estas cuestiones, pedimos enseguida a *Nature* que publicara una breve nota, en la que señalábamos que varios rasgos diferían entre las secuencias determinadas por la técnica de 454 y la clonación bacteriana, y que era probable que algunos de los rasgos afectaran al análisis. También quisimos mencionar que nuestra secuenciación adicional de la librería había indicado muy poca contaminación basada en el mtDNA. Pero más adelante nos dimos cuenta de que probablemente algún nivel de contaminación se había introducido en la librería en la empresa 454, quizá procedente de una librería de DNA de Jim Watson que resultó que 454 había secuenciado al mismo tiempo que nuestra librería neandertal. Por lo que en la nota admitíamos que «puede haber presencia de niveles de contaminación por encima de la que estima el ensayo de mtDNA». Pero era imposible decir por cuánto. Señalábamos a los lectores tanto el artículo de Wall como el artículo en el que describíamos el uso de etiquetas en la producción de la librería, que ahora hacía imposible cualquier contaminación fuera del cuarto limpio[3]. También publicamos una nota en la base de datos de secuencias de DNA disponible públicamente, para que los usuarios potenciales conocieran las preocupaciones sobre estos datos. Pero, para mi enfado, después de enviar la nota a los revisores, *Nature* decidió no publicarla.

Discutimos si habíamos sido demasiado precipitados al publicar los datos de prueba en *Nature*. ¿Nos había llevado a seguir adelante la competencia con Eddy? ¿Tendríamos que haber esperado? Algunos del grupo lo pensaban, y otros no. Incluso retros-

pectivamente pienso que la única prueba directa de contaminación que poseíamos, el análisis del mtDNA, había mostrado que la contaminación era baja. Y esa seguía siendo la situación. El análisis del mtDNA tenía sus limitaciones, pero en mi opinión la prueba directa siempre tenía que tener preferencia sobre las inferencias indirectas. Por ello, en la nota que *Nature* nunca publicó, decíamos que «no se conocen test de contaminación basados en las secuencias nucleares, pero para tener secuencias nucleares fiables del DNA antiguo, habrá que desarrollar estos test». Este siguió siendo un tema constante en nuestras reuniones de los viernes durante varios meses más.

CAPÍTULO 14

CARTOGRAFÍA DEL GENOMA

Una vez que supimos que podíamos hacer las librerías de DNA que necesitábamos, y con la esperanza de que 454 tendría pronto máquinas lo bastante rápidas para secuenciarlas todas, empezamos a dirigir nuestra atención al siguiente reto: el mapeo genético. Este era el proceso de encajar los fragmentos cortos de DNA neandertal con la secuencia de referencia del genoma humano. Este procedimiento podría sonar sencillo, pero de hecho resultó ser una tarea monumental, parecida a hacer un rompecabezas gigante con muchas piezas perdidas, muchas piezas dañadas y muchísimas piezas de sobra que no encajaban en ningún sitio del rompecabezas.

En el fondo, el mapeo requería que equilibráramos nuestras respuestas a dos problemas diferentes. Por una parte, si requeríamos encajes casi exactos entre los fragmentos de DNA neandertal y el genoma humano, podríamos perder fragmentos que tuvieran dos o más diferencias reales (o errores). Esto haría que el genoma neandertal fuera más parecido al de los humanos actuales de lo que realmente es. Pero si nuestros criterios de encaje eran demasiado permisivos, podíamos acabar permitiendo que fragmentos de DNA bacteriano que presentaran una semejanza espuria con algunas partes del genoma humano fueran atribuidos por error a DNA neandertal. Esto haría que el genoma neandertal pareciera más diferente del de los humanos actuales de lo que es en la realidad. Conseguir este equilibrio de forma correcta era el paso más importante del análisis porque influiría en todo el trabajo posterior que giraba en torno a las diferencias de puntuación con respecto a los genomas actuales.

También debíamos tener en cuenta consideraciones prácticas. Los algoritmos informáticos que se usan para el mapeo puede que no tengan en cuenta demasiados parámetros, ya que resulta-

ría imposible comparar con eficacia los más de mil millones de fragmentos de DNA, cada uno compuesto de 30 a 70 nucleótidos, que pensábamos secuenciar de los huesos de neandertal con los tres mil millones de nucleótidos en el genoma humano.

Las personas que acometieron la tarea monumental de diseñar un algoritmo para mapear los fragmentos de DNA fueron Ed Green, Janet Kelso y Udo Stenzel. Janet se nos había unido en 2004 desde la Universidad de Western Cape, en su Sudáfrica natal, para encabezar un grupo de bioinformática. Líder modesta pero eficaz, pudo constituir un equipo cohesionado a partir de las peculiares personalidades que constituían el grupo de bioinformática. Una de estas personalidades era Udo, que tenía una faceta misantrópica; convencido de que la mayoría de las personas, sobre todo las de mayor jerarquía académica, eran tontos de solemnidad, había abandonado la universidad antes de acabar su grado de informática. A pesar de ello, estaba probablemente más capacitado como programador y pensador lógico que la mayoría de sus profesores. Me alegré de que el proyecto neandertal llamara su atención a pesar de que su convencimiento de que siempre se lo sabía todo mejor a veces me volvía loco. De hecho, es probable que Udo nunca se hubiera llevado bien conmigo si no hubiera sido por la influencia mediadora de Janet.

Ed, como su original proyecto de *splicing* o empalme de RNA había sufrido una muerte callada y sin luto, se había convertido de hecho en el coordinador de los esfuerzos por mapear los fragmentos de DNA neandertal. Él y Udo desarrollaron un algoritmo de mapeo que tenía en cuenta los patrones de error en las secuencias de DNA neandertal. Estos patrones los había trabajado Adrian junto con Philip Johnson, un brillante estudiante del grupo de Monty Slatkin de Berkeley. Habían descubierto que los errores están situados principalmente hacia los extremos de las cadenas de DNA. Ello se debía a que, cuando se rompe una molécula de DNA, las dos cadenas a menudo tienen longitudes

diferentes, y la cadena más larga queda suelta y vulnerable al ataque químico. El detallado análisis de Adrian también reveló que, al contrario que nuestras conclusiones de justo un año antes, los errores se debían a la desaminación de los residuos de citosina, no de los residuos de adenina. De hecho, cuando aparecía una C al extremo de una hebra de DNA, habría un riesgo de un 20 a un 30% de que apareciera como una T en nuestras secuencias.

El algoritmo de mapeo de Ed implementaba de forma inteligente el modelo de Adrian y Philip de cómo aparecían los errores como probabilidades de error dependiendo de la posición. Por ejemplo, si una molécula neandertal tenía una T en la posición final y el genoma humano una C, esto se consideraba casi como una combinación perfecta, ya que los errores de desaminación inducida de C a T en la posición final de los fragmentos de neandertal eran muy comunes. Por el contrario, una C en la molécula neandertal y una T en el genoma humano en la posición final se consideraba un completo desajuste. Estábamos seguros de que el algoritmo de Ed sería un gran avance en la reducción del mapeo falso de fragmentos y el incremento de los correctos.

Otro problema era escoger un genoma de comparación para utilizarlo para mapear los fragmentos neandertales. Una de las metas de nuestra investigación era examinar si la secuencia del genoma neandertal revelaba una relación más estrecha con los humanos de Europa que de otras partes del mundo. Por ejemplo, si mapeábamos los fragmentos de DNA neandertal con respecto a un genoma europeo (más o menos la mitad del genoma de referencia estándar era de una persona de ascendencia europea), los fragmentos que encajaban con el genoma europeo deberían ser retenidos con más frecuencia que los fragmentos que era más parecidos a los genomas africanos. Esto haría que los neandertales parecieran incorrectamente más semejantes a los europeos que a los africanos. Necesitábamos una comparación neutral, y encontramos una en el genoma del chimpancé. El ancestro común

que los neandertales y los humanos modernos compartían con los chimpancés existía hace quizá 4 a 7 millones de años, lo cual quiere decir que el genoma del chimpancé debería ser distinto tanto del genoma neandertal como del genoma humano moderno. También mapeamos los fragmentos de DNA neandertal con respecto a un genoma imaginario que se había construido estimando cómo sería el genoma del ancestro común de los humanos y chimpancés. Después de ser mapeados con respecto a estos genomas más distantes, los fragmentos neandertales podían ser comparados con las secuencias de DNA correspondientes de los genomas actuales de diferentes partes del mundo, y podían calificarse las diferencias de una manera que no desviara los resultados desde el principio.

Todo ello requería una potencia de computación considerable, y tuvimos la suerte de contar con el apoyo inquebrantable de la Max Planck Society siempre que lo solicitamos. La sociedad dedicó un conjunto de 256 poderosos ordenadores en sus instalaciones informáticas del sur de Alemania en exclusiva a nuestro proyecto. Incluso con estos ordenadores a nuestra disposición, mapear una sola sesión de las máquinas de secuenciar llevaba días. Mapear todos nuestros datos llevaría meses. La tarea esencial que Udo acometió fue cómo distribuir de forma más eficaz el trabajo entre estos ordenadores. Como Udo estaba profundamente convencido de que nadie podía hacerlo tan bien como él, quería hacer todo el trabajo él solo. Tuve que cultivar mi paciencia mientras esperaba su progreso.

Cuando Ed analizó el mapeo de los primeros lotes de las nuevas secuencias de DNA que nos enviaban desde Branford, descubrió un patrón preocupante que hizo saltar las alarmas del grupo y hundió mi ánimo: ¡los fragmentos más cortos mostraban más diferencias con el genoma humano que los fragmentos más largos! Recordaba a uno de aquellos patrones que Graham Coop, Eddy Rubin y Jeff Wall habían visto en nuestros datos de *Nature*.

Habían interpretado aquel patrón como contaminación, asumiendo que los fragmentos más largos mostraban menos diferencias con los humanos modernos porque muchos de ellos eran DNA humano moderno que contaminaba nuestras librerías. Esperábamos que preparando las librerías en nuestro cuarto limpio y utilizando nuestras etiquetas TGAC nos libraríamos de la plaga de la contaminación. Ed inició un trabajo frenético para ver si teníamos contaminación humana moderna en nuestras librerías de secuenciación.

Por fortuna descubrimos que no. Ed vio enseguida que si hacía más estrictos los criterios de corte para el encaje, entonces los fragmentos cortos y largos se hacían igual de diferentes con respecto al genoma de referencia. Ed pudo demostrar que cada vez que nosotros (y Wall y los demás) habíamos utilizado los valores de corte usados de forma rutinaria por los científicos del genoma, fragmentos bacterianos cortos de DNA se encajaban equivocadamente en el genoma humano de referencia. Esto hacía que los fragmentos cortos parecieran muy distintos de los fragmentos largos del genoma de referencia; cuando incrementó el corte de calidad, el problema desapareció, y sentí secretamente justificada mi desconfianza en las estimaciones de contaminación basadas en las comparaciones entre fragmentos cortos y fragmentos largos.

Pero poco después de esto, nuestras alarmas volvieron a sonar. Esta vez el problema era aún más enrevesado y me costó un tiempo entenderlo, así que por favor, tengan paciencia conmigo. Una consecuencia de la variación genética humana normal es que una comparación de cualquiera de las dos versiones del mismo cromosoma humano revela a grandes rasgos una secuencia diferente en cada mil nucleótidos, siendo estas diferencias el resultado de mutaciones en generaciones previas. Así que cada vez que se dan dos nucleótidos diferentes (o alelos, como dirían los genetistas) en cierta posición en una comparación de dos cromo-

somas, podemos preguntarnos cuál de los dos es el más antiguo (o el «alelo ancestral») y cuál es el más reciente (el «alelo derivado»). Por suerte, es posible averiguarlo con facilidad comprobando qué nucleótido aparece en los genomas de los chimpancés y otros simios. Este alelo es el que es más probable que haya estado presente en el ancestro común que compartimos con los simios, y es por tanto el ancestral.

Estábamos interesados en ver con cuánta frecuencia los neandertales llevaban alelos recientes, derivados, que también se ven en los humanos actuales, porque esto nos permitiría estimar cuándo se separaron los ancestros neandertales de los ancestros humanos modernos. En esencia, la presencia de más alelos derivados compartidos por los humanos modernos y los neandertales significa que los dos linajes divergieron más recientemente. En el verano de 2007, Ed analizó nuestros nuevos datos de 454 Life Sciences y se alarmó. Igual que observaron Wall y otros en los datos de test más reducidos publicados en 2006, Ed vio que los fragmentos de DNA más largos —los de más o menos 50 nucleótidos— tenían más alelos derivados que los cortos. Esto sugería que los fragmentos más largos estaban más relacionados con el DNA humano actual que los cortos, un hallazgo paradójico que una vez más podía ser producto de la contaminación.

Como muchas de las crisis anteriores, esta dominó nuestras reuniones de los viernes. Durante semanas lo discutimos sin parar, sugiriendo una explicación posible tras otra, ninguna de las cuales nos llevaba a ningún sitio. Al final, perdí la paciencia y sugerí que quizá *sí* teníamos contaminación, que quizá tendríamos que tirar la toalla y admitir que no podríamos presentar un genoma neandertal fiable. Estaba al límite y me sentía con ganas de llorar como un niño. No lo hice, pero creo que muchos del grupo se dieron cuenta de que aquello era una verdadera crisis. Quizá esto les dio fuerzas. Parecía que Ed no había dormido nada en varias semanas. Por fin él fue capaz de descifrarlo.

Recuérdese que un alelo derivado se inicia como una mutación en un solo individuo, un hecho que, por definición hace que los alelos derivados sean raros. Examinado en conjunto, el genoma de una persona mostrará alelos derivados en aproximadamente un 35% de las posiciones de variación, mientras que un 65% llevará alelos ancestrales. El avance de Ed se produjo cuando se dio cuenta de que esto significaba que cuando un fragmento de DNA neandertal llevaba un alelo derivado, podía diferir de la secuencia de referencia del genoma humano un 65% de las veces, y encajar solo un 35%. Esto, a su vez, suponía que ¡era más probable que un fragmento de DNA neandertal encajara en la posición correcta si llevaba el alelo ancestral! También se dio cuenta de que los fragmentos cortos con una diferencia con respecto al genoma humano pasarían a menudo desapercibidos para los programas de mapeo que los largos, porque los fragmentos largos tienen más posiciones de encajar, lo que permite que se les mapee de forma correcta incluso con una o dos diferencias. Por consiguiente, a menudo, los fragmentos cortos con alelos derivados serán expulsados por el programa más veces que los largos, y, por tanto, parecería, incorrectamente, que los fragmentos cortos llevan menos alelos derivados que los fragmentos largos. Ed tuvo que explicarme esto muchas veces antes de que lo entendiera. Aun así no me fie de mi intuición y esperé que pudiera probarnos de alguna manera directa que su idea era correcta.

Supongo que Ed no quería verme llorar en la reunión, así que al final se le ocurrió un experimento inteligente que demostró lo que decía. Sencillamente cogió los fragmentos largos de DNA que había mapeado y los cortó por la mitad en el ordenador, por lo que ahora medían la mitad. Entonces los mapeó de nuevo. Como por arte de magia, la frecuencia con la que llevaban alelos derivados decreció en comparación con los largos a partir de los cuales habían sido generados. Esto se debía a que muchos de los fragmentos que llevaban alelos derivados no podían ser mapea-

dos cuando eran más cortos. ¡Por fin teníamos una explicación del patrón de aparente contaminación de nuestros datos! Al menos, algunos de los patrones de contaminación vistos en los datos de test originales publicados en *Nature* podía ahora explicarse. En silencio exhalé un suspiro de alivio cuando Ed presentó su experimento. Publicamos estas revelaciones en un artículo muy técnico en 2009[1].

Los descubrimientos de Ed reforzaron mi convicción de que eran necesarios ensayos directos de contaminación, y nuestras reuniones de los viernes nos llevaron una y otra vez a plantearnos cómo podríamos medir la contaminación del DNA nuclear. Pero ahora estaba algo más relajado cuando surgían estas discusiones. Estaba convencido de que estábamos en el buen camino.

CAPÍTULO 15

DE LOS HUESOS AL GENOMA

Hacia principios de 2008 el personal de 454 Life Sciences de Connecticut había llevado a cabo 147 sesiones de las nueve librerías que habíamos preparado con el hueso Vi-33.16, con un rendimiento de 39 millones de fragmentos de secuencia. Era mucho, pero aún no tanto como hubiera deseado tener para entonces, y desde luego demasiado poco para que valiera la pena empezar a reconstruir el genoma nuclear. Sin embargo, tenía muchas ganas de probar los algoritmos de mapeo, así que emprendimos la ingente tarea de reconstruir el genoma mitocondrial. Hasta ese momento, lo que habíamos hecho nosotros o cualquier otro había sido secuenciar unos 800 nucleótidos de las partes más variables del mtDNA neandertal. Ahora queríamos hacer la totalidad de los 16 500 nucleótidos.

Ed Green empezó cribando los 39 millones de fragmentos de DNA para identificar los que eran similares a los mtDNA de los humanos actuales. Comparó entonces estos fragmentos de secuencias unos con otros para encontrar dónde se solapaban, lo cual le permitió construir una secuencia de mtDNA neandertal preliminar. Luego volvió a navegar entre los 39 millones de secuencias, buscando esta vez las más semejantes a su secuencia de mtDNA neandertal preliminar que se le podrían haber escapado la primera vez. En total identificó 8341 secuencias de mtDNA neandertal, con una media de longitud de 69 nucleótidos. A partir de entonces ensambló una molécula completa de mtDNA de 16 565 nucleótidos, la secuencia de mtDNA neandertal contiguo más larga jamás reconstruida.

Esto me proporcionó una reconfortante sensación de haber conseguido algo concreto, aunque los análisis del genoma del mtDNA neandertal no revelaron nada sobre los neandertales que no conociéramos ya. Los conceptos útiles que encontramos eran

de naturaleza técnica. Por ejemplo, encontramos que el número de fragmentos que recuperamos variaba a lo largo del genoma. Ed se dio cuenta de que esto estaba en correlación con las cantidades de nucleótidos G y C relativos a A y T en los fragmentos. Esto quería decir que las moléculas de DNA ricas en G y C sobrevivían mejor en el hueso —o, quizá, sobrevivían mejor a nuestra extracción del hueso—. Pero la buena noticia era que no se perdía nada del mtDNA. Empecé a sentir que muchos de los problemas técnicos al analizar fragmentos de DNA neandertal estaban ahora bajo control. También encontramos 133 posiciones en las que el mtDNA neandertal difería de todos, o casi todos, los mtDNA humanos actuales[1]. Antes de esto, solo sabíamos de tres de estas posiciones en el fragmento corto de mtDNA neandertal que habíamos publicado en 1997. Utilizando las 133 posiciones, podíamos ahora estimar con más seguridad el nivel de contaminación por mtDNA moderno en nuestros nuevos datos. Era de un 0,5%. También volvimos atrás y medimos la contaminación de mtDNA en los datos de los viejos test de nuestro artículo de *Nature* de 2006 así como en los datos adicionales generados mientras nuestro artículo de *Nature* estaba aún en prensa. De 75 fragmentos de mtDNA, 67 eran de tipo neandertal. Así que había una contaminación del 11% en aquellas librerías, más de lo que habíamos esperado, pero mucho menos que el porcentaje del 70 u 80% sugerido por el artículo de Kim y Wall. Incluimos toda esta información en un artículo que enviamos a *Cell*, la revista que había publicado nuestros resultados iniciales de mtDNA neandertal en 1997. De nuevo insistimos en que sería preferible una manera directa de estimar la contaminación específica para el genoma nuclear. Y reanudamos nuestras discusiones en las reuniones de los viernes sobre la mejor manera de hacer esto.

Una vez que acabamos el análisis, sin embargo, empecé a preocuparme porque el artículo sobre el mtDNA hubiera des-

viado nuestra atención del hecho de que la acumulación de secuencias de mtDNA neandertal estuviera yendo despacio. Ya estábamos bien entrados en el segundo año del proyecto, y solo a meses del vencimiento del plazo de dos años que nos habíamos marcado públicamente para producir los 3000 millones de nucleótidos neandertales. Pasarnos un poco en el tiempo sería un problema menor, pero por desgracia sentí que íbamos camino de un final mucho peor. El resultado fue que las reuniones de laboratorio se hicieron cada vez más tensas. A veces me descubría siendo gritón y sarcástico (de lo cual me arrepentía profundamente más tarde), a veces por culpa de argumentos ilógicos o porque alguien era incapaz de describir de manera sucinta lo que había hecho en el laboratorio. Pero la razón profunda de mi malhumor era mi percepción de que el proyecto no estaba avanzando. En parte, la lentitud del progreso se debía a que pocos extractos contenían suficiente DNA neandertal para permitir la producción de librerías de DNA a la velocidad que hubiéramos deseado, pero también era obvio que la secuenciación en la empresa 454 no estaba yendo deprisa. Michael Egholm, desde luego, seguía comprometido con el proyecto, pero 454 Life Sciences había sido vendida al gigante farmacéutico suizo Roche en marzo de 2007. El resultado fue que la persona que manejaba la secuenciación día a día en Branford dejó la empresa el otoño siguiente, y mi sospecha era que para Egholm y los demás resultaba difícil dedicar su atención plena al genoma neandertal. Por primera vez, flirteé con la idea de trabajar con la competencia de 454.

Uno de esos competidores era David Bentley, un experto genetista humano que conocí en el encuentro de Cold Spring Harbor de mayo de 2007. En 2005 se había trasladado del Instituto Wellcome Trust Sanger a Solexa, una nueva empresa nacida del departamento de Química de la Universidad de Cambridge. En Solexa supervisaba el desarrollo de una máquina de secuenciar

DNA que suponía la competencia más fuerte para la empresa 454 aún de Jonathan Rothberg. Igual que la técnica de 454, la técnica de Solexa utilizaba adaptadores pegados a los extremos de las moléculas para crear librerías de DNA que pudieran ser amplificadas y secuenciadas. Sin embargo, a diferencia de la técnica de 454 cada molécula de la librería se amplificaba no solo en pequeñas gotitas de aceite, sino por medio de cebadores ligados a una superficie de cristal. Por tanto, de cada cadena inicial de DNA que aterrizaba sobre el cristal, saldría un pequeño grupo, o racimo, compuesto de millones de copias de la librería original. Estos racimos eran entonces secuenciados añadiendo un cebador de secuenciación, una DNA polimerasa, y las cuatro bases, cada una etiquetada con un tinte fluorescente distinto.

Las primeras versiones de prueba de estas máquinas se entregaron a los centros de secuenciación en 2006. Podían secuenciar una tira de solo veinticinco nucleótidos, y yo había oído en aquel momento que las máquinas se rompían a menudo. Pero la gran ventaja potencial de esta tecnología era que cada sesión de la máquina permitía la secuenciación no solo de cientos de miles de fragmentos de DNA, como con las máquinas de 454, sino de unos pocos millones, y esta cifra podría incrementarse a medida que las máquinas mejoraran. Pronto, también las longitudes leídas fueron de 30 nucleótidos, y se hablaba de una mejora que permitiría que cada fragmento de DNA fuera secuenciado desde cada uno de sus extremos para que pudiera leerse un total de 60 nucleótidos. Esto empezaba a sonar muy interesante, desde luego, para los investigadores del DNA antiguo. Pero también otros se interesaron. En noviembre de 2006, Illumina, una empresa de biotecnología con base en Estados Unidos, compró Solexa. David Bentley era ahora el científico jefe de la nueva empresa y su vicepresidente.

En el encuentro de Cold Spring Harbor, hablé de nuestro proyecto con David. Estaba de acuerdo en que le enviara un ex-

tracto de mamut o de neandertal para comprobar cómo funcionaba la tecnología de Illumina. De hecho, ya habíamos empezado este test. Estábamos tan ansiosos por probar esta tecnología que unos meses antes, en febrero de 2007, habíamos enviado uno de nuestros mejores extractos de mamut a Jane Rogers, del Sanger Institute de Cambridge, que era la encargada de sus máquinas Solexa. Sin embargo, no nos había contestado aún, así que volví de Cold Spring Harbor con una sensación de urgencia y empecé a importunar a nuestros contactos en Sanger por los resultados. A principios de junio, llegaron los datos. Nos quedamos un poco desanimados al ver en las secuencias que la tecnología parecía propensa al error. La empresa trabajaba duro para mejorar esto, pero también me di cuenta de que la tasa de error se compensaba con las altísimas cifras de fragmentos de DNA que las máquinas podían secuenciar. En principio, podíamos simplemente secuenciar cada fragmento de DNA en una librería múltiples veces, de manera que los errores serían fáciles de localizar y descartar. Por desgracia, Illumina no operaba su propio centro de secuenciación, como 454, así que necesitaríamos nuestra propia máquina, que, debido a la gran demanda, solo conseguimos seis meses más tarde. Para entonces podía leer 70 nucleótidos, pero aún cometía muchos errores, lo cual se hacía cada vez más frecuente a lo largo de las secuencias que leía. Una actualización técnica de la máquina en 2008 nos permitió secuenciar cada fragmento de DNA de nuestras librerías desde cada uno de sus extremos. Como nuestros fragmentos de DNA tenían de media una longitud de solo 55 nucleótidos, podíamos por tanto leer cada secuencia de DNA dos veces, una desde cada lado. Esto suponía que para la mayoría de ambos fragmentos teníamos información fiable de secuencia.

La persona que acometió el reto de analizar los datos de Illumina fue Martin Kircher, que se había unido al grupo de bioinformática de Janet Kelso como estudiante de posgrado en el ve-

rano de 2007. Su aspecto infantil y su encantadora sonrisa desmentían lo que me pareció que era una excesiva confianza en sí mismo que frisaba en la arrogancia, quizá inspirada por Udo, su mentor no oficial. Esto me había irritado mucho al principio, pero poco a poco llegué a apreciar su capacidad para entender con rapidez cuestiones técnicas, organizar el flujo de datos de la máquina de secuenciación en el grupo de ordenadores y retroalimentar a los técnicos que operaban las máquinas. Y trabajaba muy duro. Tanto yo como Janet y todos los demás fuimos confiando poco a poco cada vez más en Martin para mantener nuestra máquina de secuenciación de Illumina avanzando y metiendo análisis en los ordenadores.

Para principios de 2008 estaba claro que necesitábamos abandonar la tecnología de 454 por completo para tener una posibilidad de acabar el genoma neandertal en un tiempo razonable. El punto fuerte de la tecnología 454 era su capacidad de secuenciar fragmentos largos de DNA, pero como nuestros fragmentos de DNA eran cortos, no nos interesaba. Nuestro objetivo era secuenciar muchos fragmentos cortos de DNA lo más rápido posible. Y en estas producciones masivas, Illumina tenía una auténtica ventaja sobre 454. Pero abandonar el sistema de 454 no sería sencillo, porque Ed Green y los demás habían estado muy ocupados construyendo programas diseñados para manejar los datos de 454. Cambiarse a Illumina supondría renovar los procedimientos de manejo de datos e incorporar las diferentes versiones de los datos de secuencia. Las tecnologías eran tan nuevas que no se disponía comercialmente de *software* para resolver estos problemas. Teníamos que hacerlo nosotros mismos.

A medida que se acercaba el verano de 2008, estas cuestiones se hicieron extremas. A mediados de julio haría dos años de nuestra conferencia de prensa. Estaba claro que no cumpliríamos esa fecha tope, pero si los periodistas llamaban y preguntaban, quería al menos tener un nuevo plazo. Ahora teníamos bastantes

huesos y extractos de DNA como para hacer suficientes librerías de secuenciación para llegar a los 3000 millones de nucleótidos, pero la única manera de secuenciar el genoma completo como habíamos prometido era trasladarnos a Illumina. Acabé cogiendo una cantidad sustancial del dinero que habíamos apartado para pagar a 454 por la secuenciación, y en su lugar encargué cuatro máquinas más de Illumina. Con cinco máquinas trabajando al mismo tiempo, pensé que podíamos hacerlo, y si nos entregaban las máquinas pronto, podríamos incluso poder hacerlo para fin de año. De nuevo tuve que dar por terminada una colaboración, y con este fin me reuní con Michael Egholm de 454 en un encuentro en Dinamarca. Por fortuna entendió mi razonamiento, pero predijo que nos arrepentiríamos de tener que lidiar con «microlecturas plagadas de errores», como definió despectivamente las lecturas más cortas que producían las máquinas de Illumina.

★ ★ ★

En medio de todos estos altibajos emocionales, me alegré de tener un respiro privado del trabajo neandertal. El 1 de julio Linda y yo volamos a Kona, Hawái. La razón oficial del viaje (y la explicación que di en el laboratorio) era que me habían invitado a algo llamado Academy of Achievement, una conferencia anual en la que músicos, políticos, científicos y autores se reunían en un entorno cerrado e íntimo para compartir ideas y experiencias con otros y con un centenar de estudiantes de posgrado de todo el mundo. Por muy emocionado que estuviera ante la perspectiva de pasar unos días con muchas personas sabias y famosas, esta no era la única razón por la que había venido aquí. Linda y yo habíamos decidido utilizar esta oportunidad para casarnos. Era algo que habíamos pospuesto largo tiempo, sobre todo porque yo consideraba el matrimonio una formalidad anticuada. Ahora habíamos decidido casarnos en parte por razones prácticas que tenían que ver con los planes de pensiones alemanes en caso de

que yo me muriera antes que ella, pero queríamos hacerlo en privado y con un toque algo antiguo. Organizamos una ceremonia con una pastora New Age en la playa, un escenario todo lo hermoso que se pueda uno imaginar. La pastora empezó invocando a los espíritus hawaianos, soplando con una caracola largos sonidos a los cuatro puntos cardinales de la brújula. Hicimos nuestros votos privados mutuos y la pastora nos declaró marido y mujer. A pesar de las consideraciones prácticas que habían impulsado nuestra decisión de casarnos, sentí que la ceremonia mostraba el hondo compromiso que se había desarrollado entre nosotros. Mi vida con Linda había resultado mucho más rica que mi existencia monástica de profesor en Múnich, sobre todo a partir del nacimiento de nuestro hijo Rune en 2005.

Después de la ceremonia en la playa, nos fuimos de excursión. Linda había encontrado una zona en un parque en la Big Island que era a la vez solitaria y bonita. Salimos caminando con nuestras pesadas mochilas bajo el sol deslumbrante sobre lechos de lava de aspecto lunar hasta que llegamos a la costa. Allí pasamos cuatro días paseando desnudos por playas vírgenes, buceando con peces y tortugas, y haciendo el amor en la playa y bajo las palmeras. Cuando caía dormido con el rumor relajante del océano Pacífico y el susurro de las palmas sobre la cabeza, la estepa subártica donde los neandertales habían vivido me parecía muy lejana. Resultó una interrupción perfecta en una fase de mi vida extremadamente intensa.

★ ★ ★

Pero el interludio hawaiano fue corto. La semana después de que Linda y yo volviéramos de Hawái di una charla en el Congreso Mundial de Genética, en Berlín. Describí nuestro progreso técnico hacia la secuenciación del genoma y nuestros resultados con el mtDNA. Fue frustrante no tener más que decir. Otro orador del encuentro era Eric Lander, uno de los principales pensa-

dores y fuerzas motrices detrás del esfuerzo público para secuenciar el genoma humano. Yo siempre le había considerado perspicaz y agudo casi de forma intimidante. Me había reunido con Eric a menudo en Cold Spring Harbor y en Boston, donde encabezábamos el Broad Institute, un instituto de investigación de mucho éxito dedicado a la genómica, y con frecuencia había hecho caso a sus consejos. Después del congreso, vino a Leipzig a visitar a nuestro grupo. Aún no habíamos recibido nuestras nuevas máquinas de Illumina, y con nuestra única máquina no podíamos generar datos lo bastante deprisa, ya que cada sesión llevaba dos semanas, más el tiempo de procesamiento en los ordenadores. Por suerte, Eric, un gran campeón de las máquinas de Illumina, tenía varias en el Broad Institute y nos ofreció ayuda. Ya estábamos solo a días del plazo que nos habíamos impuesto, así que acepté su oferta sin dudarlo. Estaba claro que no acabaríamos en nuestra fecha tope, pero si generábamos los datos para finales del 2008, al menos lo habríamos hecho dentro del año que dijimos.

Cuando se acercaba el plazo de dos años, tanto *Nature* como *Science* empezaron a cortejarnos para que les enviáramos nuestro artículo del genoma del neandertal. Consideré hacer lo que había hecho en 1996 con la publicación de la primera secuenciación de mtDNA neandertal en *Cell*, que es una revista de biología molecular más seria. Pero había algo que debe decirse en favor de publicar en una de las otras dos prestigiosas revistas, donde todo el mundo esperaba ver su trabajo, sobre todo los estudiantes y posgraduados, que tienden a creer que sus carreras se verán beneficiadas por publicar allí. En junio, Laura Zahn, una editora de *Science*, nos visitó para discutir sobre el artículo del neandertal. La American Association for the Advancement of Science (Asociación Americana para el Avance de la Ciencia), es quien publica la revista *Science*, y poco después de la visita de Laura, la AAAS me invitó para que hiciera una presentación

completa del trabajo del neandertal en su encuentro anual, que tendría lugar en Chicago del 12 al 16 de febrero de 2009. Esto supuso una fecha tope definitiva contra la que trabajar, con la cual estaba seguro que cumpliríamos. Así que acepté la charla, y me di cuenta de que ello suponía que con toda probabilidad publicaríamos en *Science*.

Como ocurre tan a menudo, las cosas llevaron más tiempo de lo esperado. Nos llevó hasta finales de octubre producir cinco librerías de DNA del estilo de Illumina con nuestras etiquetas neandertales especiales. Secuenciamos partes alícuotas de cada librería en nuestra máquina Illumina y determinamos con cuidado las cantidades de moléculas en las librerías. Encontramos que contenían más de mil millones de fragmentos de DNA. Esto debería darnos lo que necesitábamos para completar la secuencia del genoma. Enviamos las librerías junto con los cebadores personalizados al Broad Institute para su secuenciación. Sin embargo, la capacidad de las máquinas de Illumina la analizaríamos utilizando un programa de ordenador desarrollado por Martin Kircher que leía más nucleótidos con menos errores de lo que podían hacer los programas comerciales proporcionados por el programa de Illumina. La cantidad de datos de las máquinas de secuenciación que su programa necesitaba era tan enorme que era impracticable transferirla vía Internet; en su lugar, habíamos dispuesto que se enviaran discos duros de ordenador de gran capacidad de Boston a Leipzig.

A mediados de enero de 2009, nos llegaron dos discos duros que contenían los resultados de las pocas primeras sesiones. Ahora, las etiquetas especiales de nuestras librerías neandertales demostraron su utilidad. Martin descubrió que una de las sesiones del Broad Institute no contenía *ninguna* secuencia con estas etiquetas. Estaba claro que algo se les había mezclado en el Broad Institute. Esto era sorprendente, y un poco alarmante. Pensé en devolver la secuenciación a nuestro laboratorio, donde para en-

tonces ya teníamos nuestras cuatro nuevas máquinas Illumina funcionando. Pero las otras sesiones de los dos discos duros del Broad Institute parecían buenas, y nos habíamos comprometido a trabajar con Eric. Por fin, el 6 de febrero de 2009, nos llegaron por FedEx dieciocho discos duros. No sobraba ni un día. En seis días, el 12 de febrero, tendría lugar la reunión de AAAS.

Martin, Ed y Udo comprobaron los datos del Broad Institute. Las lecturas llevaban nuestras etiquetas, la distribución de los tamaños de los fragmentos era la misma que la que habíamos visto en nuestras sesiones de Illumina, y cuando Udo mapeó las lecturas los resultados eran coherentes con los datos que habíamos generado en Leipzig. Fue un alivio. La AAAS había forzado una conferencia de prensa para acompañar mi charla en su reunión de Chicago y yo había temido no tener nada que decir. Ahora podría anunciar que habíamos creado las secuencias necesarias para llegar a una cobertura del genoma. Pero así como había querido que el anuncio inicial del proyecto hubiera sido en Leipzig, una ciudad aún en el proceso de emerger de las sombras de su pasado socialista, ahora sentía que la conferencia de prensa de la AAAS debería tener lugar también en Leipzig. Y en reconocimiento por el inicial apoyo de 454 Life Sciences a nuestro proyecto, quería organizar la conferencia de prensa con ellos. La AAAS aceptó y el 12 de febrero organizamos una conferencia de prensa con 454 en Leipzig y con un enlace de vídeo con Chicago para que todos los participantes en el encuentro y la prensa de Chicago pudieran hacer preguntas. Después volaría a Chicago para mi charla, fijada para el 15 de febrero.

Esto nos dejaba solo seis días para prepararnos. Centré la mayor parte de la nota de prensa, y mi charla de Chicago, en los obstáculos técnicos que habíamos tenido que superar para llegar a nuestra primera visión del genoma de una forma humana extinta. Describí cómo Tomi MariČiĆ había usado cantidades diminutas de DNA etiquetado radiactivamente para identificar y

modificar los pasos en los que se daban pérdidas de DNA, cómo las librerías etiquetadas producidas en nuestro cuarto limpio eliminaban los problemas de contaminación que habían afectado al estudio piloto, cómo los detallados estudios de Adrian Briggs y Philip Johnson habían revelado patrones de errores en las secuencias de DNA, y cómo los programas de ordenador que Udo Stenzel y Ed Green habían diseñado nos permitieron identificar y mapear los fragmentos de DNA neandertal a la vez que evitábamos muchos escollos.

También quería decir algo de los neandertales. No habíamos tenido tiempo de mapear, y mucho menos de analizar, los aproximadamente mil millones de secuencias de DNA. Por fortuna, a lo largo de los últimos seis meses, Udo y otros habían mapeado los más de 100 millones de fragmentos que habíamos secuenciado con la tecnología de 454. Esto nos permitía desentrañar algunas curiosidades de relevancia biológica. Ed había visto dos casos en los que otros habían afirmado que las variantes genéticas que ahora se ven en los humanos modernos habían sido aportadas por flujo de genes de los neandertales. Una de estas era una gran región de 900 000 bases en el cromosoma 17 que está invertida (o volcada) en el cromosoma de muchos europeos. Se habían usado los excelentes registros genealógicos islandeses para mostrar que la versión invertida estaba asociada con una fertilidad ligeramente superior en mujeres. ¿Procedía esta versión invertida de los neandertales, como habían especulado algunos? Ed comprobó nuestras secuencias neandertales, y ninguno de los tres neandertales que habían aportado secuencias a nuestro esfuerzo portaba la versión invertida. Este hallazgo no descartaba la posibilidad de que otros neandertales pudieran portar la variante invertida y aportarla a los europeos, pero la hacía menos probable. De manera semejante, un gen en el cromosoma 8 que, cuando muta, reduce sensiblemente el tamaño del cerebro aparece en diferentes versiones en personas normales de todo el mundo; se

había sugerido que la versión común en Europa y Asia procedía de los neandertales. Pero Ed demostró que nuestras secuencias no llevaban esa variante. Así, viendo estos ejemplos, no había trazas de aportación genética de los neandertales a los europeos modernos. Me sentía seguro con esta conclusión, que encajaba con la que habíamos hallado una década antes en los datos del DNA mitocondrial. Pero habían de sorprenderme los resultados de algunos otros descubrimientos de última hora.

CAPÍTULO 16

¿FLUJO DE GENES?

Durante el largo vuelo de vuelta de Chicago a Leipzig, intenté evaluar con serenidad el estado actual del proyecto. Aunque ya habíamos generado todas las secuencias de DNA que necesitábamos, quedaba mucho trabajo por hacer. Lo primero que necesitábamos era mapear todos los fragmentos de DNA secuenciados con respecto al genoma del chimpancé con la tecnología de Illumina y reconstruir el genoma ancestral de humanos y chimpancés. El grupo de Leipzig se centraría ahora en adaptar los algoritmos, que Ed y Udo habían desarrollado para los datos de 454, a nuestros nuevos datos de Illumina.

Una vez hecho esto, podíamos empezar a plantearnos varias preguntas sobre nuestra relación con los neandertales: cuándo divergían nuestros linajes, qué diferentes éramos, si nuestros linajes se habían mezclado alguna vez, y si algunos genes habían cambiado de forma interesante entre las personas actuales y los neandertales. Para contestar a preguntas como estas, necesitaríamos a más personas que las de mi grupo. Necesitaríamos a mucha gente de todo el mundo.

Ya en 2006 me había dado cuenta de que nuestro proyecto era histórico no solo porque era la primera vez que iba a secuenciarse el genoma de una forma extinguida de humano, sino también porque era la primera vez que un pequeño grupo académico había acometido la secuenciación de un genoma completo de mamífero. Hasta entonces, solo grandes centros de secuenciación habían sido capaces de emprender un proyecto así. Pero incluso estos grandes centros colaboraban con otras instituciones para analizar diferentes aspectos de los genomas. Estaba claro que necesitábamos poner en marcha algún tipo de consorcio común. Así que, en 2006, empecé a pensar en qué tipo de expertos necesitábamos y con qué personas me gustaría trabajar.

Lo primero y principal, necesitábamos genetistas de poblaciones. Estos son genetistas que estudian variaciones en la secuencia de DNA en una especie o población y, a partir de ello, deducen qué ocurrió con estas especies o poblaciones en el pasado. Nos pueden decir cuándo se han dividido las poblaciones, si intercambiaron genes, y si la selección actuó sobre ellos. Los genetistas de poblaciones de nuestro grupo, Michael Lachmann y Susan Ptak, podían ayudar con algunos de estos temas, pero claramente necesitábamos la aportación de más personas, y queríamos trabajar solo con las mejores.

Empecé a contactar con gente, la mayoría de ellos de Estados Unidos, en cuanto nuestro proyecto estuvo encaminado. Casi todos con los que hablé querían formar parte del proyecto —estaba claro que era una oportunidad única para estudiar un genoma que la mayoría de los investigadores habían considerado imposible de secuenciar— pero necesitábamos gente que deseara trabajar a tiempo completo, o casi, en el proyecto durante unos meses para que pudiéramos acabar los análisis pronto. Había visto demasiados ejemplos de proyectos de genoma prolongados durante meses o años porque los grupos esenciales tenían compromisos múltiples o que entraban en conflicto de intereses. En honor a la verdad, cuando lo dejé claro, varias personas se dieron cuenta de que tenían demasiadas cosas que hacer y se echaron atrás.

Alguien en concreto a quien quería en el grupo era David Reich, un joven profesor de la Facultad de Medicina de Harvard y genetista de poblaciones bastante heterodoxo. Primero estudió Física en Harvard, y luego se fue a hacer el doctorado en Genética a Oxford. Le invité a visitar Leipzig en septiembre de 2006, y dio una charla sobre el controvertido artículo que él y sus colegas acababan de publicar aquel verano en *Nature*[1]. Sugería que después de la separación inicial de las poblaciones que se convertirían en humanos y chimpancés, las dos poblaciones se unieron

más de un millón de años después e intercambiaron genes antes de separarse para siempre. Hablar con David resultaba muy estimulante. De hecho, me parecía que rayaba en la intimidación intelectual. Emitía un torrente de pensamientos e ideas a una velocidad retadora y, a veces, era imposible seguir el hilo. Pero el ataque intelectual era compensado por el hecho de que David era la persona más amable y cariñosa que uno se pueda imaginar. También es notable lo poco que le preocupaba el prestigio académico. Comparte, supongo, mi convicción de que solo se podrá disponer de posiciones y concesiones académicas si se hace un buen trabajo sobre problemas interesantes. Hablé con él sobre el proyecto neandertal durante su visita a Leipzig y le di nuestro manuscrito sobre el estudio piloto para que lo leyera en su vuelo de vuelta a Boston. Unos días más tarde recibí seis páginas de comentarios detallados a nuestro artículo. Estaba claro que era el candidato ideal con el que trabajar en el genoma neandertal.

De hecho, trabajar con David supondría que no solo estaría implicado en el proyecto su asombroso cerebro, sino también la capacidad inigualable de su estrecho asociado Nick Patterson. Nick tenía una carrera todavía más insólita que la de David. Había estudiado Matemáticas en Cambridge, Reino Unido, y luego había trabajado para el Servicio Británico de Inteligencia como criptógrafo durante veinte años. Algunas personas que he conocido después han dicho que en aquella época tenía fama de ser uno de los mejores descifradores de códigos de las comunidades de inteligencia tanto británica como estadounidense. Después de dejar el mundo de la inteligencia secreta, dirigió su atención a la predicción de mercados financieros; para el año 2000 había ganado suficiente dinero en Wall Street como para vivir con comodidad el resto de su vida. Siempre intelectualmente curioso, se trasladó entonces a lo que sería más tarde el Broad Institute de Boston para utilizar sus habilidades como descifrador de códigos en el diluvio de secuencias de genomas que se generaban allí. En

Boston, acabó por unir sus fuerzas a las de David. Nick es el paradigma de lo que un niño imagina que es un científico brillante. Debido a una enfermedad ósea congénita, su cabeza parece desproporcionadamente grande y sus ojos enfocan distintas direcciones. Esto hace que parezca siempre preocupado por problemas de alta matemática. También supe que era budista, compartiendo mi prolongado, aunque no muy comprometido, interés por el budismo zen. Nick tenía una habilidad extraña para descubrir patrones escondidos en grandes cantidades de datos. Estaba tan emocionado por la perspectiva de tener a Nick y a David implicados en nuestro proyecto que les ofrecí contratar a ambos para la duración de todo el proyecto si pasaban al menos el 75% de su tiempo en Leipzig. Aunque no pudieron aceptar esta oferta, prometieron dedicar tanta atención como pudieran al genoma neandertal, promesa que cumplieron hasta un límite que excedió incluso mis mayores esperanzas.

Otro genetista de poblaciones que quería a bordo era Montgomery, o «Monty», Slatkin. Tenía su base en la Universidad de California en Berkeley, donde nos habíamos conocido en los años ochenta cuando yo era un posdoctorando de Allan Wilson. Monty ha tenido una carrera larga y distinguida como biólogo matemático y tiene la sensatez y equilibrio que son las marcas de la sabiduría y la experiencia. Había preparado a muchos estudiantes brillantes que después dirigieron sus propios grupos, y las personas más jóvenes que trabajaban con él entonces eran asimismo prometedoras. El más destacado era quizá Philip Johnson, que habría de trabajar en los patrones de errores de las secuencias neandertales junto a Adrian Briggs (ver capítulo 14). Estaba encantado de que Monty quisiera unirse a nuestro consorcio, sobre todo porque su estilo científico equilibraba el de David y Nick. Mientras que a estos les gustaba elaborar inteligentes algoritmos para deducir pasados acontecimientos de poblaciones, a Monty le gustaba construir modelos explícitos de

poblaciones y comprobar si encajaban en la variación observada en las secuencias de DNA.

Una de las primeras preguntas que el consorcio quería acometer era quizá la más controvertida: ¿Los neandertales habían aportado DNA a los pueblos que vivían en la actualidad en Europa? Después de todo, habían vivido por toda Europa hasta que aparecieron los humanos modernos hace unos 40 000 años, y algunos paleontólogos afirmaban que habían visto rasgos neandertales en los esqueletos de las primitivas personas modernas de Europa. La mayoría de los paleontólogos no estaba de acuerdo, sin embargo, y nuestro artículo de 1997 que analizaba el mtDNA neandertal no había proporcionado pistas de que hubieran aportado DNA a los europeos actuales. Solo el análisis del genoma nuclear podía contestar definitivamente a la pregunta.

Para comprender por qué un análisis del genoma nuclear sería más potente que el análisis del mtDNA, es importante recordar que mientras que el genoma nuclear se compone de más de 3000 millones de nucleótidos, el genoma de mtDNA se compone de solo 16 500 nucleótidos. Además, el genoma nuclear se reestructura en cada generación, cuando cada cromosoma de un par intercambia piezas con su pareja y cada cromosoma es transmitido independientemente de los otros a la descendencia. Debido a la reestructuración, así como al tamaño mismo del genoma nuclear, hay muchas posibilidades de percibir incluso una pequeña cantidad de mezcla entre dos grupos. Si naciera un niño de la unión entre un neandertal y un humano moderno, tendría a grandes rasgos un 50% de su DNA de cada uno de los dos grupos. Si ese niño entonces creciera con humanos modernos y a su vez tuviera hijos con ellos, sus hijos llevarían, de media, un 25% de DNA neandertal, sus nietos llevarían un 12,5%, sus bisnietos sobre un 6%, y así sucesivamente. Aunque la aportación decrece rápidamente en este escenario, un 6% del genoma todavía representa más de 100 millones de nucleótidos. Y el DNA neandertal

acabaría por difundirse por toda la población, de manera que todos tendrían cierta proporción de él. En este punto, cuando ambos progenitores de un niño llevaran aproximadamente proporciones semejantes de DNA neandertal, ya no se diluiría más, sino que permanecería de forma indefinida en la población. Además, si en efecto se daba la mezcla, es probable que no ocurriera una sola vez. Y si la población donde vivieran los niños mezclados acabara expandiéndose de manera que, de media, hubiera más de un niño por persona en la siguiente generación, entonces la aportación tendería a no perderse. Por supuesto, sabemos que la población de los humanos modernos se expandió después de que llegaran a Europa y sustituyeran a los neandertales, así que estaba seguro de que podríamos ver incluso una aportación bastante pequeña, si es que había existido. Pero como el mtDNA no mostraba signos de aportación, aún tendía a pensar que no se había dado ninguna aportación.

Yo era escéptico acerca de la aportación neandertal, en parte porque sospechaba que algún problema biológico podría interferir con el éxito del cruce. Aunque es casi seguro que los neandertales y los humanos modernos tuvieron relaciones sexuales entre ellos —después de todo, ¿qué grupos de humanos no las tienen? — a veces me preguntaba si quizá algún factor pudo hacer que la descendencia fuera menos fértil. Por ejemplo, los humanos tienen 23 pares de cromosomas, mientras que los chimpancés y gorilas tienen 24 pares. Esto es porque uno de nuestros cromosomas más grandes, el cromosoma 2, es una fusión de dos cromosomas más pequeños que aún existen en los simios. Estos reordenamientos de cromosomas se dan de manera ocasional durante la evolución, y en general no tienen consecuencias sobre el funcionamiento del genoma. Pero la descendencia híbrida de individuos que tienen diferentes números de cromosomas a menudo tiene dificultades para a su vez concebir descendencia. Si la fusión que creó el cromosoma 2 se dio después de que los humanos

modernos se apartaran de los neandertales, entonces quizá nos hayamos cruzamos con ellos, pero los hijos no transmitieron DNA neandertal, porque no podían tener hijos propios. Pero esto no eran más que pensamientos ociosos; de hecho ahora esperábamos descubrirlo de una manera segura. Y la mejor manera de hacerlo era comparar el genoma neandertal con los genomas de las personas actuales, para ver si era más cercano al de los pueblos de Europa, donde habían vivido los neandertales, que al de los pueblos de África, donde nunca vivieron.

Para octubre de 2006, David y Nick ya estaban inmersos en el proyecto. Trabajaban con Jim Mullikin, otro miembro de nuestro consorcio. Jim era el director de secuenciación de DNA en el National Human Genome Research Institute (NHGRI) de Bethesda. Hablaba de forma sosegada y era muy útil. De hecho, de alguna manera me recordaba a Winnie the Pooh, pero en una versión muy muy competente del amigable oso. Jim había secuenciado genomas de varios europeos y africanos modernos. Para comparar estos genomas con el genoma neandertal, identificó posiciones en las que un nucleótido de un individuo en una pareja así difería del otro individuo. Estas posiciones, que, como se ha señalado, se llaman polimorfismos de nucleótido único o SNP, son la base de casi todos los análisis genéticos. Me acordé de cuánto me emocioné en 1999 cuando Alex Greenwood descubrió el primer SNP de la Edad del Hielo nunca visto (ver capítulo 9); había recuperado secuencias de DNA nuclear de un mamut y encontró una posición en que los dos cromosomas del mamut diferían entre sí. Ahora queríamos analizar los cientos de miles de estos SNP que habían sido identificados en humanos para ver qué versiones habían llevado los neandertales hace unos 40 000 años, mucho antes de la Edad de Hielo en que habían vivido los mamuts. Aunque llevábamos trabajando años con este objetivo, aún me parecía ciencia ficción.

Para usar SNP para buscar rastros de posible cruce entre neandertales y humanos modernos, volvimos a la lógica que sustentaba un análisis que habíamos hecho del primer mtDNA neandertal en 1996. En aquel momento sosteníamos que, puesto que los neandertales habían vivido solo en Europa y Asia occidental, esperábamos que cualquier aportación de su mtDNA se habría producido allí. Así, si los neandertales y los modernos humanos se hubieran mezclado, algunos europeos andarían por ahí con mtDNA que hasta hace 30 000 años había estado en un neandertal. Por tanto, esperábamos que el mtDNA neandertal fuera por término medio más semejante al encontrado en algunos europeos que al encontrado en personas de África. Habíamos fallado en ver esto y por ello habíamos concluido que no se había dado ninguna aportación de mtDNA. En el caso del genoma nuclear, valdría el mismo argumento; si no hubo aportación de los neandertales a los humanos modernos en ningún lugar del mundo, entonces por término medio, a través de muchos individuos y muchos SNP en el genoma, los neandertales deberían llevar muchas diferencias de nucleótidos procedentes de todas las poblaciones. Si, por otra parte, habían aportado a alguna población, los genomas de esa población deberían ser por término medio más cercanos al genoma neandertal que a los genomas de otras poblaciones. David, Nick y Jim, por tanto, identificarían SNP en los que se diera que uno de los africanos que Jim había secuenciado difería de uno de los europeos. Contarían entonces con cuánta frecuencia el genoma neandertal encajaba con los genomas africano y europeo, respectivamente. Si los neandertales eran más cercanos a los europeos, ello indicaría flujo de genes de los neandertales a los ancestros europeos.

En abril de 2007, en la preparación del encuentro sobre el genoma de Cold Spring Harbor, Jim y David me enviaron sus primeros análisis de las secuencias neandertales que habíamos generado con la técnica de la empresa 454. Para verificar el método,

habían analizado primero un individuo europeo actual en SNP en los que se sabía que otro europeo y un africano diferían unos de otros. Hallaron que el europeo encajaba con el otro europeo en un 62% de los SNP, y con el africano en un 38% de los SNP. Por tanto, como era de esperar, las personas del mismo lugar del mundo, por término medio, compartían más variantes SNP entre sí que con gente de otras partes del mundo. Pudieron comparar la secuencia neandertal en 269 posiciones en las que los individuos europeos y africanos diferían y hallaron que la neandertal encajaba con la europea en 134 posiciones y la africana en 135 posiciones. Estos datos estaban muy próximos al 50/50 y se encajaban perfectamente con mi idea previa de que no había habido mezcla. También me gustaba este resultado por otra razón. Significaba que lo que teníamos era el DNA de una persona que parecía estar relacionada por igual con los europeos y con los africanos. En resumen, no podía haber mucha contaminación de DNA de humanos actuales entre nuestras secuencias neandertales, ya que cualquier contaminación así quizá habría procedido de un individuo europeo y por tanto habría hecho que el neandertal se pareciera más al individuo europeo que al africano.

El 8 de mayo de 2007, el día antes de que se iniciara el encuentro, todos los miembros de lo que ya se llamaba de forma oficial el Consorcio para el Análisis del Genoma Neandertal [Neanderthal Genome Analysis Consortium] se encontraron por primera vez en Cold Spring Harbor. Inicié el encuentro describiendo la etiqueta que habíamos introducido para descartar cualquier contaminación que apareciera después de que las librerías abandonaran nuestro cuarto limpio. También hablé de los tres yacimientos arqueológicos (ver capítulo 12) y los huesos a partir de los cuales habíamos generado datos. Teníamos 1,2 millones de nucleótidos de DNA determinados a partir de Vindija con nuestro nuevo estudio de librería etiquetada. También teníamos unos 400 000 nucleótidos del espécimen tipo del valle de Nean-

der en Alemania, de cuyo hueso habíamos determinado el segmento de mtDNA en 1997. Finalmente, teníamos 300 000 nucleótidos de El Sidrón, la cueva de España donde Javier Fortea y su equipo habían recogido para nosotros huesos en condiciones estériles.

Mi descripción de los yacimientos neandertales fue un grato alivio de la explicación técnica bastante críptica de cómo habíamos extraído y secuenciado DNA de los huesos y cómo podían analizarse estas secuencias. Todo el mundo estaba impresionado de que el neandertal parecía estar tan lejos de un individuo africano como de un europeo, pero David Reich puntualizó con acierto que nada más con 269 SNP, solo podíamos excluir una aportación genética muy grande de los neandertales a los europeos. De hecho, el intervalo de confianza del 90% para la estimación del 49,8% del encaje de los SNP de los europeos era entre el 45% y el 55%. Esto suponía que, con un 90% de confianza en que fuera correcto, solo podíamos decir que los neandertales habían aportado no más del 5% del genoma a los europeos. En otras palabras, había una posibilidad del 10% de que los neandertales hubieran aportado más de ese 5%. Esta incertidumbre me dio la razón sobre la importante ventaja de los análisis genéticos moleculares sobre los análisis paleontológicos. Si hubiéramos estado discutiendo las formas, perfiles, orificios y crestas de los huesos neandertales, no podríamos haber hecho ninguna estimación realista sobre lo seguros que estábamos de lo que habíamos hallado. Ni podríamos haber estado seguros de poder recoger más datos para resolver el problema con una fiabilidad mayor. Con el DNA, sí podíamos.

David había usado también los SNP que Jim había detectado en humanos actuales en otros análisis. Comparó la secuencia de DNA para cada SNP con la del chimpancé para determinar cuál de las dos variantes, o alelos, era ancestral y cuál era derivada. Cuanto más atrás en el tiempo se separaba la población neander-

tal de las poblaciones humanas modernas, menos a menudo llevaban los neandertales los alelos derivados, más nuevos, de las personas actuales. Cuando David analizó 951 SNP que habían sido descubiertos en africanos, halló que un europeo actual llevaba alelos derivados en 31,9% de los SNP. Cuando analizó nuestras secuencias neandertales, encontró que llevaban los alelos derivados en 17,1% de los SNP, aproximadamente una frecuencia de la mitad a la de los europeos actuales. Dadas ciertas suposiciones, como el tamaño constante de la población a lo largo del tiempo, esto sugería que los neandertales se separaron de los africanos hace unos 300 000 años. Estaba encantado con los resultados. Estaba claro que las secuencias que habíamos determinado venían de una criatura con una historia muy diferente de la de las personas que vivían hoy. Sin embargo, David enfrió mi entusiasmo volviendo a puntualizar que todavía no teníamos muchos datos. De hecho, el 90% del intervalo de confianza para el porcentaje de alelos derivados en los neandertales estaba entre el 11 y el 26%. Aun así, estábamos sin duda en el camino correcto.

Después de que nos cambiamos al uso de las máquinas de secuenciar de Illumina y empezamos a generar secuencias de DNA a una velocidad mucho mayor, nuestras conferencias telefónicas de dos veces al mes con el consorcio se hicieron más largas y empezamos a hacerlas cada mes. En enero de 2009, a medida que se acercaba el encuentro de la AAAS, supliqué a David y Nick que hiciéramos un rápido análisis de nuestras secuencias de 454, que representaban alrededor de un 20% de todos nuestros datos. Aunque aún pensaba que no había habido ningún cruce entre neandertales y humanos modernos, quería que David llegara a una estimación de cuán pequeña podía ser la máxima aportación de los neandertales a los europeos sin que la detectáramos. En otras palabras, ¿cuánto estábamos excluyendo? Esta era la cifra

que quería presentar en la conferencia de prensa y en el encuentro de la AAAS.

El 6 de febrero de 2009 recibí un correo electrónico de David. Decía: «Ahora tenemos pruebas sólidas de que la secuencia del genoma neandertal está más estrechamente relacionada con no africanos que con africanos». Me quedé muy sorprendido. David había descubierto que nuestras secuencias neandertales encajaban con los europeos en un 51,3% de los SNP. Esto puede no ser muy diferente del 50%, pero ahora teníamos tantos datos que la incertidumbre era solo del 0,22%, lo cual significaba que aunque restáramos 0,22 al 51,3%, seguíamos teniendo una cifra que era diferente del 50%. Me di cuenta de que tenía que revisar mis ideas y admitir que había habido mezcla genética entre los neandertales y los ancestros de los europeos. Pero había otra observación que me hizo preguntarme si después de todo había algo equivocado en el análisis. Cuando David comparó los genomas chino y africano, los neandertales encajaban con los chinos en un 51,54% de las veces, y la incertidumbre era del 0,28% a pesar del hecho de que nunca había habido neandertales en China. David mismo estaba intrigado, además de preocupado por estos resultados. Ambos estuvimos de acuerdo en que este hallazgo era en principio muy emocionante, pero también en que los resultados tenían el potencial de ser espectacularmente erróneos. Hubo un frenético intercambio de correos y David, Nick y yo acordamos que debíamos mantener nuestro resultado de mezcla en secreto en la conferencia de prensa y la reunión de la AAAS. Si lo mencionábamos, todos los medios de comunicación del mundo hablarían de ello. Si más tarde resultaba que se debía a algún tipo de error, pareceríamos idiotas. En su lugar decidí hablar de temas menos calientes en Chicago. Los debates sobre la potencial mezcla deberían posponerse hasta una reunión que el consorcio tendría en Croacia justo después de la reunión de la AAAS.

CAPÍTULO 17

PRIMERAS REVELACIONES

Dos días después de volver de Chicago, me volví a subir a un avión, esta vez de camino a Zagreb para dar una conferencia sobre nuestro proyecto en la Academia Croata de Ciencias y Artes. Al día siguiente volé al sur del país, a Dubrovnik, donde nuestro consorcio y nuestros colaboradores croatas se iban a reunir en un hotel de la costa fuera de la ciudad. No estábamos allí solo para celebrar, sino para negociar cómo analizaríamos y publicaríamos el genoma neandertal.

Pero el vuelo a Dubrovnik no resultó tan tranquilo como se esperaba. El aeropuerto de Dubrovnik está encajado entre las montañas y el mar y tiene mala reputación por sus vientos laterales. Fue en este aeropuerto donde el secretario de comercio de Estados Unidos, Ron Brown, murió en un accidente aéreo en 1996. Más tarde, la investigación de las fuerzas áreas de los Estados Unidos atribuyeron el accidente a un error del piloto y a un intento de aterrizaje mal planteado. Mientras nos acercábamos al aeropuerto hacía viento y el avión daba saltos. El piloto croata, probablemente con sensatez, decidió no intentar el aterrizaje. En su lugar volamos a Split, ciudad a unos 230 kilómetros. Llegamos allí tarde, y nos empaquetaron en un autobús abarrotado que nos llevó por la noche a Dubrovnik. Estaba agotado cuando empezó nuestra primera sesión a las 9 de la mañana.

A pesar de lo cansado que estaba, me dio energía la presencia de casi todos los veinticinco miembros de nuestro consorcio de análisis en la sala de conferencias (ver ilustración 17.1[*]). Juntos íbamos a sacar a la luz la información de las secuencias de DNA con 40 000 años de antigüedad que habíamos determinado. Di la primera charla, un vistazo de conjunto a los datos de que ahora disponíamos. A esto le siguió una presentación técnica de Tomi sobre su preparación de la librería. Ed describió cómo estimába-

mos el nivel de contaminación humana actual, el problema que había plagado nuestro primer artículo en 2006. Nuestro análisis de mtDNA «tradicional» arrojaba una estimación de 0,3%. Para la hora del encuentro, también habíamos diseñado un análisis adicional no basado en mtDNA. Se basaba en la utilización de grandes cantidades de fragmentos de DNA que teníamos de algunas porciones del genoma, en concreto los cromosomas sexuales, X e Y. Como las hembras llevan dos cromosomas X mientras que los varones llevan un cromosoma X y un cromosoma Y, si un hueso procedía de una hembra, encontraríamos solo fragmentos de cromosoma X y ningún fragmento de cromosoma Y. Por tanto, cualquier fragmento de cromosoma Y que detectáramos en librerías derivadas de un hueso de hembra sería indicativo de contaminación por varones modernos.

Este análisis, que había surgido en una de nuestras reuniones de los viernes de Leipzig, en un principio sonaba simple. Pero como con tantas otras cosas que hizo Ed, no era tan sencillo como parecía. La complicación fue que, aunque los cromosomas X e Y son morfológicamente distintos, algunas de sus partes comparten una estrecha relación evolutiva. El DNA que comparten como resultado de esta relación podía confundir el análisis cuando mapeamos nuestros fragmentos cortos de DNA. Para evitar este problema, Ed identificó 111 132 nucleótidos en el cromosoma Y que no eran semejantes a ninguna otra parte del genoma, aun cuando esos trocitos estuvieran fragmentados en piezas de una longitud tan pequeña como 30 nucleótidos. Cuando buscó entre los fragmentos de DNA neandertal, solo encontró cuatro fragmentos que llevaran estas secuencias cromosómicas Y; si todos los huesos que usábamos procedían de machos, habría esperado ver 666 de ellos. De esta manera, dedujo que los tres huesos procedían de hembras neandertales, y que los cuatro fragmentos de DNA de cromosomas Y, tenían que proceder de contaminación de DNA. Esto parecía indicar que teníamos aproximada-

mente un 0,6% de contaminación masculina. Esta estimación no era perfecta, puesto que podíamos detectar solo DNA contaminante procedente de hombres, pero sugería que el grado de contaminación era bajo y semejante al que habíamos estimado a partir del mtDNA.

Debatimos sobre otras maneras de evaluar la contaminación. Philip Johnson, del grupo de Monty en Berkeley, sugirió un método que se basaba en el examen de las posiciones de nucleótidos en las que la mayoría de las personas actuales tienen un alelo derivado, pero en las que un individuo neandertal tenía el alelo ancestral, el parecido al de simio. En los casos en que ocurriera que un fragmento de DNA diferente del mismo u otro individuo neandertal no llevara el alelo ancestral, Philip proponía que usáramos un método matemático y considerásemos la probabilidad de que esto se debiera o bien a una variación normal entre los neandertales, o bien a errores de secuenciación, o bien a contaminación de humanos actuales. Cuando más tarde Philip llevó a cabo este sistema, el alcance de la contaminación resultó ser de nuevo inferior al 1%. Acabamos teniendo estimaciones de las que yo me fiaba y que mostraban que la calidad de nuestras secuencias era excelente.

Martin habló de los datos de Illumina, que aún no habíamos mapeado. Constituían más del 80% de todos los fragmentos secuenciados, o casi mil millones de fragmentos de DNA. Gran parte de la discusión se centró en los retos a los que se enfrentaba Udo al modificar el algoritmo del ordenador para que mapeara estos fragmentos rápidamente en el grupo de ordenadores de Alemania. A pesar de que el análisis del genoma completo tendría que esperar hasta que Udo hubiera mapeado todos los fragmentos, no por eso dejamos de plantearnos cómo lo haríamos. La primera cuestión era cuánta diferencia había entre el genoma neandertal y el genoma humano actual. La contestación a esta pregunta, en apariencia sencilla, se complicaba por los errores en

las secuencias neandertales debidos, o bien a modificaciones en los nucleótidos en el DNA antiguo, o bien a errores causados por la tecnología de secuenciación. Illumina generaba hasta un error por cada cien nucleótidos. Para compensarlo, habíamos secuenciado cada molécula antigua muchas veces. Pero aún calculábamos que los errores en las secuencias de DNA neandertal alcanzaban cinco veces los del «patrón oro», la secuencia del genoma humano de referencia. Por tanto, si solo contábamos cuántos nucleótidos diferían entre el genoma neandertal y el humano, estaríamos contando sobre todo errores en nuestro genoma neandertal.

Ed tenía una manera de soslayar este problema. Se basaba en no tener en cuenta todas las diferencias que se veían solo en los fragmentos neandertales, y en su lugar analizar las que los neandertales llevaban en posiciones en las que el genoma humano había cambiado y ahora difería de los genomas de los simios. Para hacerlo, se limitó a encontrar todas las posiciones en las que el genoma humano difería de los genomas de chimpancés y macacos. Entonces comprobaba si los neandertales llevaban, en esas posiciones, el nucleótido tipo humano moderno o el nucleótido tipo simio. Si los neandertales llevaban el nucleótido tipo humano moderno, la mutación que lo causaba era vieja y anterior a la separación entre el fragmento de DNA neandertal y el genoma humano de referencia. Si los neandertales llevaban el nucleótido tipo simio, la mutación era reciente y se daba en humanos después de que se separaran de los neandertales. Así, el porcentaje de sustituciones en los que el neandertal era «tipo simio» como una fracción de todas las sustituciones a lo largo del linaje humano daba una estimación de a qué distancia retrospectiva a lo largo del linaje humano se habían separado las secuencias de DNA neandertal de las secuencias de DNA de los humanos actuales. La respuesta era un 12,8%.

Si suponemos que nuestro ancestro común con los chimpancés vivió hace 6,5 millones de años, ello significaría que los últimos hombres y mujeres que transmitieron sus secuencias de DNA tanto a personas vivas hoy como a los neandertales vivieron hace 830 000 años. Cuando Ed hizo el mismo cálculo para parejas de personas vivas hoy día, halló que sus ancestros de DNA común habían vivido hacía 500 000 años. Así que estaba claro que los neandertales tenían una relación más lejana con las personas que viven hoy de lo que las personas vivas hoy lo están entre sí; en otras palabras, los neandertales están más o menos un 65% más lejanamente relacionados conmigo de lo que yo lo estaba con otra persona de la habitación en Dubrovnik. No podía parar de escudriñar con discreción a algunos de mis amigos en la soleada habitación e imaginar a un neandertal sentado entre nosotros. Por primera vez ahora tenía una estimación genética directa de cuánto más cerca estaba de ellos que de un neandertal.

La principal pregunta en la mente de todos era si los neandertales y los humanos modernos se habían cruzado o no. Era la pregunta que David tenía que contestar, y aunque no había podido unirse a nosotros en Dubrovnik, explicó por un teléfono con altavoz sus análisis, que sugerían el cruce. Discutimos sus resultados no solo en las sesiones, sino también en las pausas para café y en las largas, pródigas y deliciosas comidas mediterráneas que nuestros huéspedes habían organizado. La cuestión dominaba incluso las carreras matinales que Johannes y yo hacíamos por las afueras de Dubrovnik, y nos distraía de la belleza medieval de la ciudad y el daño que había sufrido durante la reciente guerra de los Balcanes, aunque no tanto como para que nos diéramos cuenta de que debíamos limitarnos a las calles pavimentadas para evitar las minas terrestres. Nuestras conversaciones se centraban sin cesar en las relaciones íntimas que pudieron haber tenido lugar entre los humanos modernos y los neandertales, que hasta

hacía 30 000 años habían vivido en la mismísima zona por la que ahora corríamos.

Algo que nos preocupaba era que todos nuestros análisis de mezclas se basaban en el cómputo de Nick de los encajes de nucleótidos entre los datos neandertales y los individuos o bien africanos, o bien europeos o bien chinos. Esto nos dejaba vulnerables al error en el código del ordenador de Nick, cuyos productos Nick mismo era el primero en subrayar que necesitábamos comprobar. Un error podía proceder de algunas diferencias, sutiles pero sistemáticas, en las técnicas usadas para secuenciar a los humanos modernos, o en la manera en que Jim Mullikin los había mapeado con respecto al genoma de referencia humano para encontrar SNP. Los efectos del error podían ser grandes aunque los errores fueran pequeños; después de todo, estábamos hablando de diferencias de solo 1 o 2%.

Durante las sesiones confeccionamos una lista de cosas que había que hacer para comprobar los resultados de Nick y David. Jim alinearía sus secuencias humanas modernas con las del genoma del chimpancé en lugar del genoma humano para eliminar cualquier sesgo que pudiera proceder del hecho de que el genoma humano de referencia procedía en parte de un individuo europeo y en parte de un individuo africano. Pero también sentíamos que teníamos que generar nuestras propias secuencias de DNA de humanos actuales. Al hacerlo así podríamos estar seguros de que todos habían sido producidos y analizados exactamente de la misma manera. Por tanto, si había problemas sistemáticos en nuestro proceso, podríamos estar seguros de que las secuencias tenían en ellas el mismo tipo de errores. Decidimos secuenciar los genomas de una persona de Europa y una de Papúa Nueva Guinea. Esto podría parecer una elección extraña, pero producto de la intrigante observación de que veíamos una señal de mezcla que era tan fuerte en China como en Europa. La sabiduría convencional decía que los neandertales nunca habían

estado en China, pero siempre he estado dispuesto a cuestionar la sabiduría convencional paleontológica. ¿Quizá había habido lo que me gustaba llamar «neandertales Marco Polo» en China? Después de todo, Johannes había demostrado en 2007 que los neandertales —o al menos humanos que llevaban mtDNA neandertal— habían vivido al sur de Siberia, a unos 2000 kilómetros más al este de donde los paleontólogos habían pensado que vivían. ¿Quizá algunos de ellos habían llegado hasta China? Sin embargo, estábamos seguros de que nunca, nunca, había habido ningún neandertal en Papúa Nueva Guinea, así que si veíamos la señal de la mezcla allí, también, entonces es que los genes neandertales habían entrado en los ancestros de los papúes antes de que llegaran a Papúa, y es probable que antes de que los chinos y los europeos se separaran unos de otros. También incluimos a una persona africana occidental, una sudafricana y una china en nuestros planes de secuenciación. Con los genomas de estos cinco individuos haríamos entonces todos los análisis otra vez para ver si los resultados se sostenían.

La reunión de Dubrovnik acabó con una fiesta gastronómica que duró horas y nos dejó repletos de excelente comida y deliciosamente ebrios. Durante mi carrera he formado parte de muchas colaboraciones, pero ninguna había sido tan buena como esta. Aun así tenía una sensación de gran urgencia por completar el proyecto. Durante la cena, transmití a todo el mundo la idea de que ahora andábamos justos de tiempo, tanto porque el mundo estaba esperando nuestros resultados después del anuncio en la reunión de la AAAS, como porque no sabíamos lo que Eddy Rubin estaba haciendo en Berkeley con los huesos neandertales que sabíamos que había conseguido. Aunque casi nunca tengo malos sueños, afirmé en mi discurso improvisado durante la cena que tenía pesadillas sobre un artículo de Berkeley que aparecía una semana antes del nuestro con las mismas conclusiones.

A la mañana siguiente dormí en el avión de vuelta a Alemania. Poco después de llegar a Leipzig, caí con un resfriado que se desarrolló con fiebre y luego con dolor de pecho cuando respiraba. Fui al hospital y me diagnosticaron neumonía y me prescribieron antibióticos. Pero nada más llegar a casa recibí una llamada para que volviera al hospital de inmediato. Los resultados del laboratorio sugerían que tenía coágulos de sangre en algún lugar de mi sistema. Pronto me encontré mirando un TAC que mostraba coágulos de sangre que obstruían grandes áreas de mis pulmones. Fue una experiencia impactante. Si esos coágulos hubieran alcanzado mis pulmones como un gran conjunto en lugar de varias piezas pequeñas, me habría muerto al instante. Los doctores achacaron los coágulos de sangre a demasiados vuelos y quizá al largo y abarrotado viaje de autobús de noche de Split a Dubrovnik. Me prescribieron anticoagulantes durante seis meses y empecé a buscar alternativas terapéuticas con la intensidad que solo procede cuando se está afectado personalmente. Para mi asombro me tropecé con referencias al trabajo de mi padre de 1943. Había descubierto la estructura química de la heparina, la droga que los doctores me habían dado cuando ingresé en el hospital y que quizá me había salvado la vida. A la vez que encontré esto divertido, también me estremeció. Arrojaba una cruda luz sobre mis antecedentes familiares. Yo había crecido como el hijo extramarital de Sune Bergström, un conocido bioquímico que compartió el Premio Nobel en 1982 por el descubrimiento de las prostaglandinas, un grupo de compuestos naturales que tienen muchas funciones importantes en nuestro cuerpo. Solo le había visto alguna vez durante mi edad adulta, y el hecho de que él había trabajado en la estructura de la heparina era solo una de las innumerables cosas que no sabía de él. La tristeza que sentí por no haber conocido a mi padre me hizo darme cuenta con más fuerza aún de que quería estar ahí cuando mi propio hijo de

tres años creciera. Quería que me conociera. Y quería ver el proyecto neandertal acabado. Era demasiado pronto para morirme.

CAPÍTULO 18

¡FLUJO DE GENES!

Empezamos a secuenciar nuestros cinco genomas modernos en mayo de 2009. El DNA original, libre de la contaminación bacteriana y del daño químico que lastraba nuestras muestras neandertales, producía unas cinco veces más secuencias de DNA de cada una de las cinco personas que las que habíamos generado del neandertal. Solo un par de años antes, la secuenciación de estos genomas en Leipzig habría sido inimaginable, pero las tecnologías de secuenciación como las comercializadas por la empresa 454 y por Illumina hacían ahora posible que pequeños grupos de investigación como el nuestro pudieran secuenciar varios genomas humanos completos en apenas unas pocas semanas.

Utilizando el método que había descrito en Dubrovnik, Ed calculó cuánto tiempo hacía que los cinco genomas humanos actuales habían compartido ancestros comunes con el genoma humano de referencia. Halló que los individuos europeo, papú y chino compartían ancestros comunes con el genoma de referencia desde hacía un poco más de 500 000 años. Si se añadía el indígena san de Sudáfrica al grupo llevaba el punto de divergencia hasta casi 700 000 años antes. La divergencia entre el san (y grupos relacionados) y otros pueblos en África y en otros lugares estaba entre las más profundas que se habían visto entre los pueblos actuales. Esto situaba en perspectiva la estimación de edad de 830 000 años para el ancestro común de los neandertales y los genomas humanos actuales: habiendo divergido hacía solo 130 000 años, los neandertales eran diferentes de nosotros, pero no mucho.

Estos cálculos deben manejarse con cuidado, ya que dan un solo valor para la edad de un ancestro común como si esto fuera cierto para todo el genoma. Sin embargo, los genomas no son heredados como unidades, lo cual significa que cada parte del ge-

noma de un individuo tiene su propia historia y por tanto su propio ancestro común con el genoma de cualquier otro individuo. Esto se debe a que cada persona lleva dos copias de cada cromosoma y una de ellas se transmite independientemente a un hijo. Así que cada cromosoma tiene su propio patrón independiente de historia —o su propia genealogía, si se quiere—. Además, cada par de cromosomas intercambia piezas entre sí en una intrincada danza molecular llamada recombinación que tiene lugar cuando se forman el óvulo y el espermatozoide. Por tanto, no solo cada cromosoma de una población tiene su propia genealogía, sino que cada pieza de cada cromosoma la tiene también. Así, las edades que Ed había calculado para ancestros comunes con el genoma humano de referencia, 830 000 años para neandertales y 700 000 años para los san, representan términos medios aproximados a lo largo de todas las partes del genoma.

De hecho, cuando comparábamos regiones del DNA de dos personas actuales, podíamos fácilmente encontrar regiones en las que compartían un ancestro común hace solo unas pocas decenas de miles de años, pero también regiones en las que compartieron un ancestro por última vez hace 1,5 millones de años. Lo mismo ocurría en una comparación entre personas actuales y neandertales. Así que si alguien pudiera pasearse por uno de mis cromosomas y compararlo tanto con un neandertal como con un lector de este libro, ese peatón cromosómico encontraría que a veces yo sería más semejante al neandertal que al lector, otras veces el lector sería más similar al neandertal, y otras el lector y yo seríamos más semejantes entre nosotros que con respecto al neandertal. El promedio de Ed solo quería decir que hay un número ligeramente mayor de regiones del genoma en las que el lector y yo somos más semejantes entre nosotros que cualquiera de nosotros con respecto al neandertal.

También es importante darse cuenta de que 830 000 años es el promedio de edad en que las secuencias de DNA de las personas

vivas hoy tienen orígenes comunes con las secuencias de DNA que llevan los fósiles neandertales. En esa época, estas secuencias de DNA existían en una población cuyos descendientes acabarían dando lugar a los ancestros de los neandertales así como a los ancestros de los humanos actuales. Pero *no* era el tiempo en que las poblaciones que habían de convertirse en humanos modernos y neandertales se separaron. Esto debió de ocurrir más tarde. La razón de esto es que cuando rastreamos en el tiempo la historia de las secuencias de DNA en un humano actual y un neandertal, los dos linajes entran en la última población que es ancestral tanto para los humanos modernos como para los neandertales —la población en la que se dio por primera vez la separación entre los dos grupos— y entonces entra la variación que existía en esa población ancestral. Así que los 830 000 años es una edad compuesta que incluye *tanto* el tiempo en que los humanos modernos y los neandertales estaban separados *como* la variación genética que existía en su población ancestral común.

La población ancestral es todavía muy misteriosa para nosotros, aunque creamos que vivía en África y que algunos de sus descendientes acabaron dejando África para convertirse en los ancestros de los neandertales. Los que se quedaron atrás habían de convertirse en los ancestros de las personas que viven hoy. Calcular cuándo se separaron estos dos grupos utilizando diferencias en las secuencias de DNA es una propuesta difícil, mucho más que calcular el tiempo en que las secuencias de DNA compartieron ancestros comunes. Por ejemplo, si la población ancestral de los neandertales y los pueblos de hoy contuviera mucha variación, muchas de las diferencias en las secuencias de DNA que encontramos se habrían acumulado en la población ancestral más que después de que los neandertales y los humanos modernos hubieran tomado caminos distintos. Esto haría relativamente reciente la separación de la población. Podíamos calcular de forma burda el nivel de variación en la población ancestral

a partir de lo diferentes que fueran las estimaciones de tiempo para los ancestros con DNA común en diferentes segmentos del genoma. Para calcular el tiempo de separación de la población, también necesitábamos saber el tiempo de generación, o el promedio de edad en la que los individuos tenían descendencia, algo que, está claro, no sabíamos. Teniendo en cuenta estas incertidumbres lo mejor que pudimos, llegamos a la conclusión de que la separación de la población parecía haberse producido en algún momento entre hace 270 000 y 440 000 años, aunque incluso eso podría también subestimar la incertidumbre. No obstante, es probable que los ancestros de los pueblos actuales y los ancestros de los neandertales tomaran caminos separados hace al menos 300 000 años.

Tras haber calibrado lo diferentes que eran los neandertales y los humanos modernos, volvimos a la pregunta de qué pasó cuando los ancestros de los pueblos actuales dejaron África y se encontraron en Europa con sus «primos» neandertales perdidos hacía tiempo. Para ver si estos humanos modernos y neandertales intercambiaron genes, Ed mapeó enseguida nuestros cinco genomas humanos con respecto al genoma de chimpancé, y David y Nick repitieron sus análisis. Yo estaba convencido de que ahora los resultados serían fiables, y sospechaba que la semejanza adicional entre los neandertales y los europeos y chinos desaparecería.

El 28 de julio, recibí dos largos correos electrónicos de David y Nick. Prueba de la pasión de David por la ciencia el que los análisis siguieran adelante aun cuando su mujer Eugenie dio a luz a su primer hijo el 14 de julio. Nick había hecho las diez posibles comparaciones por parejas entre los cinco genomas humanos modernos. En cada caso, identificó SNP en los que un cromosoma de un individuo difería de un cromosoma en el otro. Encontró unas 200 000 de estas diferencias entre cualquiera de

las parejas, más que suficientes SNP para determinar con precisión si el neandertal estaba más cerca de un humano o del otro.

Nick halló que los neandertales encajaban con el san en un 49,9% y con el yoruba en un 50,1% de los casos. Esto era esperable, ya que los neandertales nunca habían estado en África y por tanto no deberían tener más relación con unos africanos que con otros. Cuando utilizó SNP en los que el francés difería del san, los neandertales encajaban con el francés en un 52,4% de los casos. En estos momentos teníamos tal cantidad de datos que solo había una posibilidad de un 0,4% de incertidumbre en estos valores. Así que estaba muy claro que el genoma francés era más semejante a los neandertales de lo que lo era el san. Para la comparación que utilizaba el francés y el yoruba, el valor correspondiente era 52,5%. Para los SNP en los que el chino difería del san y el yoruba, los valores eran 52,6 y 52,7% respectivamente, y para los SNP en los que el papú difería de los africanos, era de 51,9 y 52,1%. Cuando analizó SNP en que el francés, el chino y el papú diferían entre sí, los valores variaban entre 49,8 y 50,6%. Así que en todas las comparaciones entre pueblos que no incluían africanos los valores rondaban los 50%. Pero cada vez que se comparaban un africano y un no africano, los neandertales encajaban con el no africano en torno a un 2% más de SNP que lo hacía el africano. Parecía desde luego que había una aportación genética pequeña pero discernible con claridad de los neandertales a los pueblos de fuera de África, sin importar dónde vivieran.

Leí los dos correos una primera vez. Luego los volví a leer, esta vez con mucho cuidado, intentando captar cualquier atisbo de fallo en los análisis. No encontré ninguno. Me recosté en mi sillón del despacho y miré sin verlo mi escritorio, tan descuidado, en el que se habían amontonado capa tras capa papeles de los últimos años. Los resultados de David y Nick resaltaban en la pantalla del ordenador. Esto no era un error técnico cualquiera. Los neandertales *habían* aportado DNA a los pueblos que vivían en la

actualidad. Era asombrosamente interesante. Era lo que había soñado en conseguir durante los últimos veinticinco años. Teníamos pruebas contundentes para contestar a una pregunta fundamental sobre los orígenes humanos que se había debatido durante décadas, y la respuesta era inesperada. Al demostrar que no toda la información genética en los humanos actuales se remontaba a los ancestros recientes en África, se contradecía la hipótesis estricta «fuera-de-África» de la que mi mentor Allan Wilson había sido uno de los principales arquitectos. Contradecía lo que yo mismo había considerado que era verdad. Los neandertales no estaban extinguidos por completo. Su DNA vivía en pueblos actuales.

Mirando mi escritorio sin verlo, me di cuenta de que nuestros resultados eran inesperados no solo porque contradecían la hipótesis «fuera-de-África». Tampoco apoyaban la versión común de la hipótesis multirregionalista. En contra de las predicciones de esta hipótesis, no habíamos visto la aportación genética neandertal solo en Europa, donde habían vivido los neandertales. También la habíamos visto en China y en Papúa Nueva Guinea. ¿Cómo podía ser? Con la mente ausente empecé a limpiar mi escritorio. Lentamente al principio, pero cada vez con más energía, tiré restos de proyectos de años. El polvo hacía remolinos en el aire desde las capas profundas de mi escritorio. Necesitaba iniciar un nuevo capítulo. Necesitaba un escritorio limpio.

Hacer tareas caseras a veces me ayuda a pensar, y mientras limpiaba, visualicé a los humanos modernos como flechas en un mapa saliendo de África y encontrándose con los neandertales en Europa. Me los podía imaginar teniendo niños con los neandertales, niños que luego se incorporaban a los humanos modernos, pero luchaba por ver cómo llegaba su DNA a Asia oriental. Era posible que la emigración posterior entre los humanos modernos pudiera haber llevado DNA neandertal a China, pero parecía que entonces encontraríamos menos semejanza de media entre

una persona china y los neandertales que entre una persona europea y los neandertales. Y de repente se me iluminó: ¡mis flechas imaginarias que mostraban a los humanos saliendo de África pasaban por Oriente Medio! Por supuesto, este fue el primer lugar donde los humanos modernos se habrían encontrado con los neandertales. Si estos humanos se mezclaron con los neandertales y luego pasaron a convertirse en los ancestros de todos los pueblos actuales de fuera de África, el resultado sería que todo el mundo fuera de África llevaría casi la misma cantidad de DNA neandertal (ver ilustración 18.1[*]). Este debería ser un posible escenario. Pero sabía por experiencia que mi intuición a veces podía estar muy equivocada. Por fortuna, también sabía que las personas como Nick, David y Monty, que comprobaban las ideas matemáticamente, me enderezarían el rumbo si estaba equivocado.

Debatimos sobre los descubrimientos de David y Nick en nuestras reuniones de los viernes y durante intensos encuentros telefónicos semanales del consorcio. Mientras que algunos de nosotros estábamos ahora convencidos de que los neandertales se habían mezclado con los humanos modernos, otros aún se resistían a creerlo, aun cuando luchaban para explicar en qué podía estar equivocado el análisis de David y Nick. Me di cuenta de que si era difícil conseguir que todos los de nuestro consorcio creyeran los resultados, sería todavía más difícil convencer al mundo, sobre todo a los numerosos paleontólogos que no veían pruebas del cruce con neandertales en sus registros fósiles. Entre estos estaban algunos de los más respetados en este campo, como Chris Stringer, en el Museo de Historia Natural de Londres, y Richard Klein, en la Universidad de Stanford en California. Aunque pensaba que estos paleontólogos eran partidarios de tener cautela en la interpretación de los registros fósiles, también parecía posible que les hubieran influido resultados genéticos previos. Muchos grupos, incluido el nuestro, habían demostrado

que el gran cuadro de la variación genética en los pueblos actuales era aquel en que la variación genética había salido de África en una época bastante reciente. Nuestro artículo de 1997 que demostraba que los neandertales no habían aportado ningún mtDNA a los pueblos actuales también había tenido una gran influencia. Aunque algunos paleontólogos, como Milford Wolpoff, en la Universidad de Michigan, y Erik Trinkaus, en la Universidad de Washington en St. Louis, vieron pruebas de mezcla en fósiles, y algunos genetistas habían hecho intentos de señalar variantes de genes que podrían proceder de neandertales, estos argumentos no eran lo bastante convincentes como para dominar la opinión común. O al menos no me habían parecido convincentes. Simplemente, nunca antes había habido necesidad de invocar ninguna aportación neandertal para explicar los patrones de variación ya sea morfológica o genética a lo largo del mundo actual. Ahora esta situación había cambiado. Podíamos ver directamente el genoma neandertal. Y vimos una aportación, aunque pequeña.

Aun así sospechaba que íbamos a necesitar más para convencer al mundo de nuestros resultados. La ciencia está lejos de la búsqueda objetiva e imparcial de verdades incontrovertidas que los no científicos pudieran imaginar. De hecho, es un empeño social en el que personalidades dominantes y discípulos de eruditos a menudo difuntos, aunque influyentes, determinan lo que es «conocimiento común». Una manera de socavar este aspecto del conocimiento común sería hacer análisis adicionales del genoma neandertal, independientes del cómputo de alelos SNP que David y Nick habían hecho. Si tales líneas de investigación adicionales e independientes sugerían también un flujo de genes de los neandertales a los humanos modernos, entonces sería más fácil convencer al mundo en general. Encontrar qué otros análisis se podrían hacer se convirtió en un tema constante en nuestros encuentros telefónicos semanales.

De forma inesperada, nos llegó una sugerencia viable de fuera de nuestro consorcio. En el encuentro de Cold Spring Harbor de mayo de 2009, David se había reunido con Rasmus Nielsen, un genetista poblacional danés que había hecho el doctorado con Monty Slatkin en 1998. Ahora era profesor de genética de poblaciones en la Universidad de California en Berkeley. Rasmus le dijo a David que él y su posdoctoranda Weiwei Zhai habían buscado genomas actuales para regiones que mostraran una variación mayor *fuera de* África que *dentro de* África. Aunque posible, este patrón en general es inesperado, ya que en un principio los grupos pequeños de poblaciones más grandes contienen en general solo un subgrupo de la variación encontrada en el grupo ancestral. Si se encontraban algunas de esas regiones, podía haber muchas explicaciones, pero es posible que una nos interesara mucho. Como los neandertales habían vivido de forma independiente de los ancestros humanos modernos durante unos pocos cientos de miles de años fuera de África, tenían que haber acumulado variantes genéticas distintas de las de los humanos modernos. Si después habían aportado segmentos de su genoma a gente fuera de África, entonces el método de Rasmus podía identificar regiones genómicas en las que esto hubiera ocurrido, porque en esas regiones debería haber solo ese patrón de más variación fuera de África que dentro de África. Si utilizábamos nuestro genoma neandertal podíamos ahora comprobar si al menos algunas de esas regiones procedían de neandertales, ya que las versiones no africanas de las regiones de Rasmus tendrían que estar entonces próximas a nuestra secuencia de DNA neandertal. En junio de 2009, les pedí a Rasmus y Weiwei que se unieran al Consorcio para el Análisis del Genoma Neandertal.

Rasmus se centró en las regiones en las que era especialmente poco común que hubiera grandes diferencias en Europa con respecto a África. Había diecisiete regiones de estas. Ed envió a Rasmus las secuencias de DNA neandertal que teníamos a mano

de quince de estas diecisiete regiones. Nos contestó en julio con resultados asombrosos. En trece de las quince regiones los neandertales sí llevaban las variantes ahora encontradas en Europa y no en África. Más tarde, Rasmus refinó su análisis y se centró en doce regiones que tenían más de 100 000 nucleótidos de largo y encontró que los neandertales llevaban las variantes ahora encontradas en Europa en diez de esas regiones. ¡Esto era un resultado muy asombroso! No podía imaginar ninguna otra explicación para esto que el flujo de genes de neandertales a pueblos de fuera de África. Aunque esto era lo que los científicos llamaban un resultado cualitativo, ya que no nos permitía calcular cuánto DNA habían aportado los neandertales a pueblos de Europa o Asia, dejaba perfectamente claro que esa aportación se había dado. Y era una línea de apoyo independiente de los otros análisis cuantitativos de David y Nick, que habían llevado a la misma conclusión.

Seguíamos pensando en otras maneras de comprobar el flujo de genes. Como siempre, David solía aparecer con ideas brillantes. Argumentó que una razón trivial por la que una región del genoma actual podría ser cercana a la del neandertal es que acepta muy pocas mutaciones, ya sea porque su tasa de mutaciones es baja o porque no puede mutar sin causar la muerte de la persona. Si una región genómica en mí es semejante a una neandertal por esta razón, entonces se esperaría que esa región también sea cercana a la de otros humanos actuales, solo porque rara vez cambia. Pero si una región en mí es semejante a un neandertal porque mis ancestros la habían heredado de los neandertales, entonces no hay razón por la que yo debiera ser más cercano a otras personas. De hecho, puede que incluso yo tienda a estar lejos de otros gracias a la distinta historia evolutiva de los neandertales.

David se puso manos a la obra para incorporar estas ideas a nuestro análisis. Utilizó las partes europeas del genoma humano de referencia y las dividió en segmentos. Entonces marcó el nú-

mero de diferencias en aquellos fragmentos del genoma neandertal y de otro genoma europeo (el de Craig Venter). En general, vio que cuanto más próximos eran los segmentos europeos del genoma de referencia a los neandertales, más próximos eran al genoma de Craig, lo cual sugería que la tasa a la que los segmentos acumulaban mutaciones determinaba las diferencias tanto con el genoma neandertal como con el genoma de Craig. Pero cuando llegó a segmentos en los que los europeos eran *muy* parecidos a los neandertales, la relación se invierte y de repente se convierte en *más* diferente del genoma de Craig. Yo ya estaba convencido por los otros análisis de que se había dado un flujo de genes. Pero cuando David, en una visita a nuestro laboratorio en diciembre de 2009, presentó estos resultados, me sentí seguro de que podríamos convencer al mundo de que los segmentos de DNA neandertal permanecían en las personas actuales. Miráramos como miráramos los datos, llegábamos a la misma conclusión.

Ahora podíamos dedicar nuestra atención a cómo, cuándo y dónde habían interactuado íntimamente los humanos modernos con los neandertales. La primera cuestión era la dirección en la que se había producido el flujo —es decir, si los humanos modernos habían aportado DNA a los neandertales, los neandertales habían aportado DNA a los humanos modernos, o ambas cosas—. Aunque se podría pensar que los genes fluirían igualmente en ambas direcciones cuando dos grupos humanos se encuentran, en la vida real rara vez se da este caso. A menudo, un grupo es socialmente dominante sobre el otro. Un patrón común es entonces que los hombres del grupo dominante engendren hijos en mujeres del grupo no dominante y que los hijos permanezcan con sus madres en el grupo no dominante. Así, el flujo de genes tenderá a ir desde el grupo socialmente dominante al grupo no dominante. Ejemplos obvios son los propietarios blancos de es-

clavos en Sudamérica y los colonialistas británicos en África e India.

Solemos pensar que los humanos modernos eran dominantes sobre los neandertales, ya que los neandertales acabaron por desaparecer. Pero de hecho nuestros datos sugerían que el flujo de genes había sido *a partir* de los neandertales *hasta* los humanos modernos. El último resultado de David, por ejemplo, mostraba que las regiones de DNA en las que algunos europeos eran semejantes a los neandertales tendían a ser muy diferentes de las encontradas en otros europeos. Ello implicaba que estas regiones habían acumulado diferencias por separado de las de otros europeos durante algún tiempo antes de entrar en la reserva genética europea actual. Es posible que esto haya ocurrido en los neandertales. Si la aportación hubiera ido en la otra dirección —de los humanos modernos a los neandertales— estas regiones habrían sido solo partes medias del genoma con cantidades medias de diferencias con otros europeos. Por esta y otras razones, concluimos que todo, o casi todo, el flujo de genes iba de los neandertales a los humanos modernos.

Esto no quería decir por fuerza que los hijos de las uniones neandertales-humanos modernos nunca fueran criados por neandertales. En 2008, Laurent Excoffier, un genetista poblacional suizo que siempre se había tomado interés por los datos generados por nuestro grupo, publicó un artículo sobre el flujo de genes entre dos poblaciones, tras el que una se expande mientras que la otra no, o incluso disminuye de tamaño. En este caso es más probable que se conserven las variantes genéticas intercambiadas entre las dos poblaciones en el grupo creciente que en la población menguante. Y si la aportación se da a lo largo del «frente de onda» de una población en avance, en el que la población en avance está en proceso de expansión, entonces las variantes aportadas podrían incluso alcanzar frecuencias bastante altas. Excoffier había llamado acertadamente a este fenómeno «surf

alélico», ilustrando el hecho de que un alelo que penetra en la «ola» de avance de una población colonizadora podría aumentar hasta altas frecuencias. Esto quería decir que el cruce podría haberse dado en ambas direcciones pero que no lo detectaríamos en neandertales, porque, después del encuentro, era probable que el tamaño de su población hubiera menguado.

Otra razón más corriente por la que podríamos no detectar el flujo de genes de los humanos modernos a los neandertales es que los neandertales de hace 38 000 años de la cueva de Vindija simplemente vivieron antes de que se produjera el intercambio. Quizá nunca sabremos de verdad los detalles de cómo se cruzaron los neandertales y los humanos modernos, pero tampoco me preocupa mucho. Para mí, «quién tuvo sexo con quién» en el Pleistoceno tardío es una cuestión de importancia secundaria. Lo que importa es que los neandertales sí aportaron de hecho genes a los pueblos actuales. Eso es lo que importa con respecto al origen genético de los pueblos actuales.

Tras confirmar los hallazgos de David y Nick, exploramos la cuestión de cuántos de los genomas de las personas de fuera de África procedían de los neandertales. Esto no se podía calcular directamente de las frecuencias de encaje de los SNP porque la cantidad de encajes extras entre neandertales y personas de fuera de África dependía de cierta cantidad de otras variables. Una variable era cuándo vivió el ancestro común de los neandertales y los humanos modernos, otra era cuándo se habían mezclado entre sí, y una tercera qué tamaño habían tenido las poblaciones de neandertales. Monty Slatkin calculó la fracción de DNA neandertal en humanos actuales dando forma a la historia de población de neandertales y humanos modernos. Sus resultados sugerían que las personas que son de ascendencia europea o asiática han heredado entre el 1 y el 4% de su DNA de los neandertales. David y Nick hicieron un análisis diferente en el que en esencia se preguntaban a cuánta distancia están los europeos y asiáticos

de ser ciento por ciento neandertales. La respuesta variaba entre 1,3% y 2,7%. Así concluimos que menos del 5% del DNA de los pueblos de fuera de África procedía de neandertales, una proporción pequeña pero discernible con claridad.

La cuestión final de esta tanda de trabajo era cómo había terminado el DNA neandertal no solo en europeos, sino en chinos y en papúes. Hasta donde sabíamos, los neandertales nunca habían estado en China ni seguramente habían llegado a Papúa Nueva Guinea, lo que nos llevaba a deducir que los neandertales y los ancestros de los chinos y papúes debieron de encontrarse en algún lugar más al oeste.

Guardé para mí la idea de Oriente Medio mientras nos sentábamos amontonados alrededor del teléfono de altavoz en mi despacho de Leipzig durante nuestra reunión telefónica semanal, para que las agudas mentes de las personas del consorcio exploraran todas las posibilidades. Monty propuso un complicado escenario para explicar los patrones de variación que veíamos. Primero, supuso que los ancestros de los neandertales tuvieron su origen en algún rincón de África y luego dejaron África y se convirtieron en neandertales en Eurasia occidental en algún momento entre hace 300 000 y hace 400 000 años. Segundo, si el lugar donde se originaron en África los ancestros de los neandertales era el mismo que el lugar donde se originaron 200 000 o más años más tarde los ancestros de los humanos modernos; y si las poblaciones de África de esa época hubieran permanecido subdivididas de manera que hubiera diferencias en frecuencias de alelos que persistieran desde la época en que se marcharon los ancestros de los neandertales hasta el tiempo en que los ancestros de los humanos modernos empezaron a propagarse; y si, cuando se originaron los humanos modernos, no solo se difundieron fuera de África, sino también por África, e incorporaron variantes que existían allí a partir del cruce con humanos africanos arcaicos, entonces el resultado sería que los neandertales serían más

semejantes a las personas de fuera de África que a las de dentro de África, justo como estábamos viendo.

Aunque este escenario era posible en teoría, requería la persistencia de una subdivisión estable de la población de África durante cientos de miles de años. Como Monty mismo señaló, esto parecía improbable, ya que los humanos son bastante propensos a desplazarse. El problema mayor era su complejidad. Para reconstruir el pasado, se considera que lo mejor es favorecer el escenario más simple que pueda dar cuenta de los patrones vistos, aun cuando también sean posibles muchos otros escenarios más complejos. El principio de preferir la explicación más sencilla se llama parsimonia. Por ejemplo, otros habían supuesto que los ancestros de los humanos modernos y de los neandertales se habían originado en Asia y que los ancestros de los humanos modernos se fueron a África y no dejaron descendientes en Eurasia, y luego volvieron a expandirse y sustituyeron a los neandertales. Esta hipótesis es desde luego compatible con todas las observaciones, pero requiere más movimientos de población y extinciones de población que la suposición más simple de que los neandertales se originaron en África. Por lo que el escenario del origen asiático es menos parsimonioso, y por tanto inferior como explicación, que el escenario del origen africano. Así que anotamos el escenario de la subestructura africana como una posible explicación de nuestros datos pero lo consideramos como improbable, ya que había una explicación más sencilla, y más obvia, tan obvia que varios de nosotros ya habíamos pensado en ella por nuestra cuenta: el escenario de Oriente Medio.

CAPÍTULO 19

LA MUCHEDUMBRE DE REEMPLAZAMIENTO

Los más antiguos restos de humanos modernos encontrados fuera de África se han descubierto en la cordillera del monte Carmelo en Israel. Los huesos encontrados en dos cuevas llamadas Skhul y Qafzeh tienen más de 100 000 años de antigüedad. Y en otros dos yacimientos a apenas unos kilómetros de distancia, las cuevas de Tabun y Kebara, se han encontrado esqueletos de neandertales que tienen unos 45 000 años. Estos hallazgos no significan necesariamente que los neandertales y los humanos modernos vivieron codo con codo en las montañas del Carmelo durante más de 50 000 años; de hecho, muchos paleontólogos sugieren que los humanos modernos del sur vivieron en la zona cuando el clima era más templado, y que los neandertales del norte se trasladaron allí, y los humanos modernos se fueron de allí, durante periodos más fríos. También se ha sugerido que los humanos modernos de Skhul y Qafzeh se extinguieron sin dejar descendencia. Pero incluso si no dejaron descendientes, es probable que tuvieran parientes. E incluso si no eran vecinos constantes, los dos grupos pudieron haber entrado en contacto, a lo largo de periodos de miles de años, incluso a medida que los cambios de clima pudieron desplazar la zona de contacto, a veces hacia el norte, a veces hacia el sur. Este es, en resumen, el escenario de Oriente Medio.

Según aprendí hablando con paleontólogos, en concreto con Jean-Jacques Hublin, el científico francés que se unió a nuestro instituto como director del departamento de Evolución Humana en 2004, Oriente Medio era un lugar atractivo para que los humanos modernos y los neandertales se hubieran mezclado hace entre 50 000 y 100 000 años. Una razón es que es la única zona del mundo donde sabemos que estuvieron los neandertales y los

humanos modernos, al menos potencialmente, en contacto durante un tiempo tan largo. Otra razón es que ninguno de los dos grupos parece haber sido dominante de forma clara durante este periodo. Por ejemplo, las herramientas de piedra utilizadas por ambos grupos eran las mismas. De hecho, como sus equipos de herramientas eran idénticos, la única manera de saber seguro si un yacimiento arqueológico de Oriente Medio de este periodo estaba ocupado por neandertales o humanos modernos es si hay restos de esqueletos.

Todo esto cambió hace 50 000 años. En esa época, los humanos modernos se establecieron sólidamente fuera de África y empezaron a expandirse con rapidez por el Viejo Mundo, alcanzando Australia en unos pocos miles de años. Para entonces, la manera en que interactuaban con los neandertales parece que había cambiado. En Europa, donde el registro de fósiles está muy bien estudiado, parece claro que cuando los humanos modernos aparecían en una zona los neandertales desaparecían ya sea de inmediato o muy poco después. Lo mismo acabó ocurriendo en todo el mundo: allá donde los humanos modernos aparecían, las formas anteriores de humanos, más pronto o más tarde, desaparecían.

Para distinguir a estos modernos humanos expansivos y ambiciosos de los humanos modernos que andaban merodeando por África y Oriente Medio entre hace 100 000 y 50 000 años, me gusta denominarles «muchedumbre de reemplazamiento». Habían desarrollado una cultura de herramientas más sofisticada, llamada Auriñaciense por los arqueólogos, caracterizada por herramientas de pedernal de diferentes tipos, incluida una variedad de cuchillas. En los yacimientos auriñacienses, a menudo se encuentran puntas para lanzas y flechas hechas de hueso, que representan lo que algunos arqueólogos creen que son los primeros ejemplos de armas proyectiles. Si es verdad, este invento, que por primera vez permitía a los humanos matar animales y ene-

migos a distancia, puede en sí mismo haber inclinado la balanza en su favor cuando se encontraban con neandertales y otras formas anteriores de humanos. La cultura auriñaciense también produjo el primer arte rupestre y las primeras estatuillas de animales, y figuras míticas que son medio humanas y medio animales, lo cual sugiere que poseían una rica vida interior que querían comunicar a otros de su grupo. La «muchedumbre de reemplazamiento» exhibía así comportamientos que se veían solo ocasionalmente, o no se veían nunca, entre los neandertales y entre los anteriores humanos modernos de Skhul y Qafzeh.

No sabemos de dónde venía la «muchedumbre de reemplazamiento». De hecho, incluso podían ser los descendientes de los mismos humanos que ya habían estado viviendo en Oriente Medio, simplemente acumulando los inventos y tendencias culturales que permitieron el «reemplazamiento», pero es más probable que procedieran de algún lugar de África. En cualquier caso, la «muchedumbre de reemplazamiento» debió de pasar tiempo en Oriente Medio.

A medida que la muchedumbre de reemplazamiento se desplazaba a Oriente Medio, bien pudieron incorporar a sus grupos a los humanos modernos que ya estaban allí. Estos humanos, a su vez, pudieron haberse emparejado ya con neandertales, de manera que el DNA neandertal pasaría a través de ellos a la muchedumbre de reemplazamiento, y de ahí a continuación a nosotros hoy. Este modelo puede parecer más complejo, y por tanto menos parsimonioso, de lo que sería ideal. Un problema importante con el que se enfrenta un modelo directo, en el que la muchedumbre de reemplazamiento se emparejaría con neandertales, es la cuestión de por qué, si estaban deseando criar hijos con neandertales en Oriente Medio, la muchedumbre de reemplazamiento no hizo también lo mismo más tarde cuando se encontraron con ellos y los sustituyeron en Europa central y occidental. Si lo hicieron, los europeos deberían tener más DNA neandertal que

los asiáticos. Lo que sugiere este escenario indirecto es que quizá la muchedumbre de reemplazamiento nunca se mezcló con los neandertales sino que en su lugar recibió la aportación neandertal a través de estos otros humanos modernos, aquellos cuyos restos se han encontrado en Skhul y Qafzeh. Estos primerísimos humanos modernos, al tener una cultura muy semejante a la de los neandertales y al haber vivido junto a ellos durante decenas de miles de años, pudieron ser más proclives a emparejarse con neandertales que a «reemplazarlos».

Es cierto que este modelo indirecto es pura especulación. Puede ser que no veamos una aportación adicional en Europa porque sea demasiado pequeña para que la detectemos. También puede ser que el cruce en Oriente Medio fuera seguido por un crecimiento especialmente grande de la población que se había mezclado con los neandertales. Si fue así, esto querría decir que somos más capaces de detectar ese acontecimiento a causa del «surf» que había descrito Excoffier, y menos capaces de detectar acontecimientos posteriores que no fueran seguidos por una expansión de la población igualmente grande. O quizá hubo una emigración posterior de África a Europa que «diluyó» la aportación neandertal extra a Europa. Espero que las pruebas directas en el futuro puedan abordar esto. Si resultara posible estudiar el DNA de los pueblos de Skhul y Qafzeh, entonces sería posible ver si se habían mezclado con los neandertales, incluso en gran medida. También sería posible ver si portaban los mismísimos fragmentos de DNA neandertal que existen hoy en personas de Europa y Asia.

De momento, el escenario más sencillo —el más parsimonioso— es que la muchedumbre de reemplazamiento se encontró y se emparejó con neandertales en algún lugar de Oriente Medio y criaron a los hijos nacidos de esas uniones. Estos hijos, en parte humanos modernos, en parte neandertales, se convirtieron en miembros de la muchedumbre de reemplazamiento, portando el

DNA de los neandertales y de sus descendientes como una especie de fósil interno. Hoy, estos restos neandertales internos han alcanzado incluso el extremo sur de Sudamérica, la Tierra de Fuego, y la isla de Pascua en medio del Pacífico. Los neandertales continúan viviendo en muchos de nosotros hoy.

Cuando habíamos llegado tan lejos en nuestros análisis, empecé a preocuparme sobre las implicaciones sociales que pudieran tener nuestros hallazgos. Por supuesto, los científicos tienen que comunicar la verdad al público, pero sentía que había que hacerlo de manera que se minimizaran las posibilidades de ser malinterpretados. En concreto, este es el caso cuando se trata de la historia humana y la variación genética humana, cuando necesitamos preguntarnos: ¿Nuestros hallazgos alimentan prejuicios que ya existen en la sociedad? ¿Se pueden tergiversar para servir a fines racistas? ¿Se pueden utilizar mal de alguna otra manera de forma deliberada o intencional?

Podía imaginar algunos escenarios. Por lo general no es un cumplido que le llamen a uno «neandertal», y me preguntaba si algunos individuos podrían vincular el DNA neandertal con la agresividad u otros comportamientos asociados con la expansión colonialista fuera de Europa. Sin embargo, esto no me parecía una amenaza muy grande, ya que este «racismo a la inversa» contra los europeos no es probable que fuera muy virulento. Un problema más serio era qué suponía que los africanos carecieran de este componente. ¿Acaso no eran parte de la «muchedumbre de reemplazamiento»? ¿Su historia era de alguna manera radicalmente diferente?

Reflexionando sobre estas cuestiones, me di cuenta de que era improbable que esto sucediera. El escenario más razonable era que todos los humanos actuales, con independencia de que vivan dentro o fuera de África, forman parte de la muchedumbre de reemplazamiento. Y aunque muchos paleontólogos y genetistas, incluido yo, hayamos pensado que la muchedumbre de reempla-

zamiento se había extendido por el mundo sin mezclarse con los otros grupos humanos con los que se haya encontrado, dando por hecho que al menos una vez ocurrió, había razón para pensar que pudo pasar más veces. Como no tenemos genomas antiguos de otras partes del mundo, estamos casi ciegos ante posibles aportaciones de otros humanos arcaicos. En concreto, esta es la situación en África, donde la variación genética es mayor que en cualquier otro lugar, por lo que sería difícil detectar una aportación de algún grupo arcaico. De todas maneras, cuando la muchedumbre de reemplazamiento se expandió por África, bien pudieron mezclarse allí con humanos arcaicos e incorporar su DNA a su reserva genética. Decidí hacer hincapié en esto ante los periodistas y en las charlas dejando claro que había pocas razones para creer que los africanos no tuvieran DNA arcaico en sus genomas. Es probable que todos los humanos lo tengan, y desde luego algunos análisis más recientes de personas actuales en África han sugerido que este es el caso.

Una tarde, en que estaba bastante cansado después de un largo día de trabajo seguido de algún comportamiento particularmente guerrero de nuestro hijo de cinco años, se me ocurrió una pregunta loca justo después de que cayera dormido: si todas las personas de hoy llevan del 1 al 4% del genoma neandertal, ¿podríamos imaginar que, por pura casualidad, como fruto anormal de la distribución aleatoria de segmentos de DNA durante la producción y fusión de espermatozoides y óvulos, pudiera ser concebido un niño neandertal del todo, o casi? ¿Podría haber sucedido que los numerosos fragmentos de DNA neandertal que existen en las personas actuales llegaran juntos a mi espermatozoide y al óvulo de Linda y acabaran convirtiéndose en nuestro guerrero hijo? ¿Cuánto de neandertal podría él —o yo— tener?

Decidí hacer un simple cálculo. Los segmentos que Rasmus había identificado tenían una longitud de unos 100 000 nucleótidos, y de media quizá un 5% de las personas de fuera de África

llevaban cualesquiera de ellos. Si todos los fragmentos neandertales tenían esta longitud, y si, juntos, constituían todo el genoma neandertal, existirían unos 30 000 fragmentos. Muchos fragmentos de DNA neandertal eran de hecho a la vez más cortos de longitud y de frecuencia menor al 5%, y quizá no se sumarían al conjunto del genoma, pero yo quería influir deliberadamente en mi cálculo para ver si podía ser posible de alguna manera que mi hijo fuera de descendencia neandertal completa. Con estas premisas, su posibilidad de tener un fragmento en particular de DNA neandertal era como sacar un billete de una lotería en la que fueran ganadores un 5% de los billetes. Su posibilidad de llevar el fragmento de neandertal en los dos cromosomas de un par suyo era como sacar un billete ganador en esta lotería dos veces. Esto era un 5% del 5%, o sea un 0,25%. Para ser completamente neandertal por el genoma que había heredado de Linda y por el genoma que había heredado de mí, ¡tendría que haber sacado billetes ganadores dos veces por cada uno de los 30 000 segmentos, o 60 000 veces seguidas! La posibilidad de esto era por supuesto infinitesimal (de hecho, un cero y una coma seguidos de 76 000 ceros y luego alguna cifra). Por tanto, no solo era muy improbable que mi hijo fuera completamente neandertal, incluso entre todos los 8000 millones de personas sobre la Tierra no había ninguna posibilidad de que naciera un niño neandertal. Así que tuve que descartar la idea de que mi hijo fuera neandertal en algún grado apreciable. Por fortuna, también pude desechar el riesgo de que algún neandertal tardío entrara algún día en nuestro laboratorio y me ofreciera una muestra de sangre, haciendo innecesario todo nuestro esfuerzo por secuenciar un genoma neandertal a partir de huesos antiguos.

Sin embargo, son metas importantes de la investigación tanto identificar con claridad qué segmentos de DNA de nuestro genoma proceden de los neandertales, como descubrir si todas las partes del genoma neandertal se mantienen diseminadas en las

personas actuales. El tamaño y número de estos fragmentos nos dirían algo sobre cuántos casos de niños efectivamente mezclados hubo detrás de la aportación de DNA neandertal a la muchedumbre de reemplazamiento y cuándo se dio esta aportación. También podrían ser muy interesantes todas las partes que pudieran faltar, porque pueden contener la esencia genética de la diferencia crucial entre la muchedumbre de reemplazamiento humana moderna y los neandertales.

En este punto de mis meditaciones, me di cuenta después de hacer los cálculos sobre mi hijo de que otros también estarían interesados en descubrir qué partes de sus genomas eran de origen neandertal. Cada año me escribía gente sugiriendo que ellos (o sus seres queridos) eran en parte neandertales. A menudo incluían fotos, que mostraban individuos fornidos, y con bastante frecuencia se presentaban voluntarios para aportar una muestra de sangre a nuestra investigación. Ahora que ya teníamos de hecho un genoma neandertal, podía imaginar comparar nuestras secuencias de DNA neandertal con las secuencias de DNA de cualquier persona actual e identificar los segmentos del DNA de la persona que estuvieran lo bastante cerca de los neandertales como para que las hubieran heredado de ellos. Después de todo, ya había muchas empresas que ofrecían este tipo de análisis con respecto a la ascendencia en muchas partes diferentes del mundo. Por ejemplo, personas en Estados Unidos que a menudo están interesadas en descubrir cuánto de su ascendencia procede de África, Europa, Asia o de los nativos americanos. En el futuro, esto podría hacerse para la ascendencia neandertal. Me intrigaba, pero una vez más también me preocupaba. Podría haber un estigma asociado con ser «neandertal». ¿La gente se podría sentir mal si supiera que alguna parte de su genoma que portara genes implicados en cómo funcionan las células del cerebro procedía de los neandertales? ¿Incluirían las futuras discusiones entre cónyuges argumentos tales como «Nunca sacas la basura porque tal

y tal gen cerebral tuyo es neandertal»? ¿Se podría aplicar este estigma a grupos enteros de personas si resultara que alguna población tenía una alta frecuencia de una variante neandertal de un gen?

Me pareció que deberíamos tratar de controlar estas aplicaciones de nuestro trabajo. La única manera de hacerlo que se me ocurría era patentar el uso del genoma neandertal para esta prueba de ascendencia. Si lo hacíamos, cualquiera que quisiera ganar dinero analizando personas necesitaría obtener de nosotros una licencia. Eso nos permitiría imponer unas condiciones sobre cómo se daba la información a los clientes. También cobraríamos una tasa por estas licencias de manera que nuestro laboratorio y la Max Planck Society recuperarían parte del dinero invertido en el proyecto neandertal. Hablé de esto con Christian Kilger, un antiguo estudiante de posgrado que ahora era abogado especializado en patentes biotecnológicas en Berlín. Discutimos juntos cómo se podían compartir unos supuestos ingresos de una patente entre los grupos de investigación del consorcio.

Pensando que este plan podría ser algo controvertido, se lo presenté al grupo en una de nuestras reuniones de los viernes. Pronto descubrí que había juzgado mal la situación por completo. Algunas personas estaban bastante en contra de una patente. En especial, Martin Kircher y Udo Stenzel, cuyas capacidades profesionales yo respetaba mucho, estaban en contra de patentar el uso de algo que se daba de forma natural, como el genoma neandertal. En conjunto, esta era una opinión minoritaria en el grupo, pero era defendida con un fervor casi religioso. Otros mantenían la postura diametralmente opuesta. Ed Green, por ejemplo, había visitado incluso la empresa comercial de ascendencia más grande, 23andMe, en California, y parecía abierto a trabajar con ellos en el futuro. El debate hacía estragos en nuestras reuniones, en la cafetería, en los laboratorios y en nuestras mesas de trabajo. Invité a Christian Kilger y a un abogado de pa-

tentes de la Max Planck Society a explicar qué eran las patentes y cómo funcionaban. Se metieron en grandes profundidades para explicar que una patente limitaría solo el uso comercial del genoma neandertal —e incluso en ese caso solo para el propósito particular de comprobar ascendencia— y que de ninguna manera limitaría ninguna aplicación científica. Esto no cambió las opiniones ni acabó con el tono emocional de nuestro debate.

No quería una larga pelea divisoria sobre esta cuestión en el grupo. Y menos aún quería forzar una decisión contra la voluntad de una minoría muy entregada. Aún nos quedaba mucho para enviar nuestro artículo y necesitaba cohesión en el grupo. Así que dos semanas después de plantear la cuestión, anuncié durante una reunión de los viernes que había decidido abandonar la idea de la patente. Recibí un correo de Christian que acababa en «qué oportunidad perdida». Compartía su sentimiento. Había sido una oportunidad tanto de financiar investigaciones futuras como de influir de forma positiva sobre cómo podrían utilizar nuestros resultados las empresas comerciales. De hecho, mientras escribo esto, 23andMe ha empezado a ofrecer test de ascendencia neandertal. Seguro que otras empresas la seguirán. Pero la cohesión del grupo era lo que hacía avanzar nuestro proyecto. Era un activo demasiado valioso como para arriesgarse a destruirlo.

CAPÍTULO 20

¿ESENCIA HUMANA?

Nuestro instituto de Leipzig es un lugar fascinante. De una u otra manera, casi todos sus investigadores estudian qué significa ser humano, pero todos ellos se acercan a esta pregunta difusa desde una perspectiva basada en los hechos, experimental. Una línea de investigación interesante es la de Mike Tomasello, director del departamento de psicología comparada y del desarrollo. Su grupo se interesa por las diferencias de desarrollo cognitivo entre los humanos y los grandes simios.

Para medir estas diferencias, el grupo de Mike administra los mismos «test de inteligencia» a ambos. Es de especial interés lo bien que los simios y los niños humanos colaboran con sus pares para conseguir metas, como, por ejemplo, imaginar cómo conseguir un artilugio para liberar un juguete o una golosina. Una revelación que ha surgido del trabajo de Mike es que, hasta unos diez meses de edad, apenas hay diferencias cognitivas detectables entre los jóvenes humanos y los jóvenes simios. Sin embargo, en torno al año de edad, los humanos empiezan a hacer algo que los jóvenes simios no hacen: empiezan a llamar la atención de otros hacia objetos de interés señalándonos. Es más, a partir de esta edad, la mayoría de los niños humanos encuentran muy interesante señalar cosas. Pueden señalar una lámpara, una flor, o un gato, no porque quieran la lámpara, la flor o el gato, sino con el único propósito de atraer la atención de sus madres, padres u otras personas hacia ello. Lo que les fascina es el acto mismo de dirigir la atención de otra persona. Parece que al llegar al año de edad, han empezado a descubrir que otras personas tienen una visión del mundo e intereses no tan distintos de los suyos propios, y también, a dar pasos para ser capaces de dirigir la atención de otros.

Mike sugiere que esta necesidad de dirigir la atención de otros es uno de los primeros rasgos cognitivos que surgen durante el desarrollo de la infancia y que es verdaderamente privativo de los humanos[1]. Es, desde luego, una de las primeras señales de que los niños han empezado a desarrollar lo que los psicólogos llaman una teoría de la mente, una apreciación de que los otros tienen percepciones diferentes de la propia de uno. Es fácil imaginar que la enorme capacidad humana para las actividades sociales, para manipular a los demás, para la política, y para la acción concertada del tipo que da como resultado grandes y complejas sociedades, surge de esta habilidad para ponerse en el lugar del otro y manipular la atención y el interés de esa otra persona. Creo que Mike y su grupo han señalado algo que es fundamental para situar a los humanos en una trayectoria histórica tan distinta de la de los simios y la de las numerosas formas humanas extinguidas, como los neandertales.

Mike también ha señalado otra tendencia muy importante que distingue a los niños humanos de los jóvenes simios: los niños humanos, mucho más que los simios, tienden a imitar lo que hacen sus padres y otros humanos. En otras palabras, los niños humanos «imitan», mientras que los simios no «imitan»[2]. Y al contrario, los padres humanos y otros adultos corrigen y modifican comportamientos de sus hijos en mucha mayor medida de la que lo hacen los padres de simios. En muchas sociedades, los humanos incluso han formalizado esta actividad, es lo que conocemos como enseñanza. De hecho, una gran parte de las actividades que los humanos hacen con sus hijos es enseñarles, de una forma implícita o explícita. A menudo esto está institucionalizado en forma de escuelas y universidades. Por el contrario, casi no se ha observado enseñanza en los simios. Me resulta fascinante que la propensión humana a aprender de otros con facilidad pueda emanar de la atención compartida que se manifiesta por pri-

mera vez en el niño pequeño que señala a la lámpara solo para hacer que su padre la mire.

Este enfoque sobre la enseñanza y el aprendizaje quizá tiene consecuencias fundamentales en las sociedades humanas. Mientras que los simios deben aprender cada habilidad que acaban adquiriendo a través de la prueba y error y sin un padre u otro miembro del grupo que les enseñe, los humanos pueden aprovechar con mucha más efectividad el conocimiento acumulado de las generaciones anteriores. El resultado es que cuando un ingeniero mejora un coche, no necesita inventárselo a partir de cero. Lo construirá sobre los inventos de las generaciones previas desandando todo el camino hasta el motor de combustión del siglo XX y la rueda en la antigüedad. A esta sabiduría acumulada de sus ancestros añadirá tan solo algunas modificaciones al diseño que las generaciones posteriores de ingenieros a su vez darán por sentado y continuarán elaborando. Mike lo llama «efecto arrastre». Es, a todas luces, una de las claves del enorme éxito cultural y tecnológico de los humanos.

Mi fascinación con la obra de Mike proviene de mi convicción de que hay soportes genéticos en nuestra propensión hacia la atención compartida y la capacidad de aprender cosas complejas de otros. De hecho, hay amplia evidencia que sugiere que los rasgos genéticos son cimientos necesarios de estos comportamientos humanos. En el pasado, algunas personas hicieron lo que hoy consideramos experimentos poco éticos criando a simios recién nacidos junto con sus propios hijos en sus casas. Aunque los simios aprendían a hacer muchas cosas humanas —podían construir frases sencillas de dos palabras, manipular aparatos domésticos, utilizar bicicletas, y fumar cigarrillos— no aprendían habilidades complejas de verdad y no establecían comunicación a la escala en la que lo hacen los humanos. En esencia, no se convertían en cognitivamente humanos. Así que está

claro que hay un sustrato biológico necesario para adquirir con plenitud la cultura humana.

Esto no quiere decir que solo los genes sean suficientes para la adquisición de la cultura humana, sino que son un sustrato necesario. En el experimento imaginario en el que un niño humano es criado en ausencia de cualquier contacto con otros seres humanos, es muy probable que el niño nunca desarrolle la mayoría de los rasgos cognitivos que asociamos con los humanos, incluida la conciencia del interés de los otros. Es probable que ese desgraciado niño tampoco desarrolle el más sofisticado de los rasgos humanos que emanan de nuestra tendencia a compartir la atención con los otros: el lenguaje. Así que estoy convencido de que la aportación social es necesaria para el desarrollo de la cognición humana. Sin embargo, los simios, aunque se integren en la sociedad humana a muy temprana edad y con mucha intensidad, y aunque se les haya sometido a procesos de enseñanza, no desarrollan más que habilidades culturales rudimentarias. Solo un entrenamiento social no es suficiente. Es necesaria una predisposición genética para adquirir la cultura humana. De la misma manera, estoy convencido de que un humano recién nacido criado por chimpancés no conseguiría convertirse en chimpancé cognitivamente. Con seguridad hay también un sustrato genético necesario para convertirse plenamente en chimpancé del que los humanos carecen. Pero como somos humanos, estamos más interesados en lo que hace humanos a los humanos que en lo que hace chimpancés a los chimpancés. No debería avergonzarnos ser «humanocéntricos» en nuestros intereses. De hecho, hay una razón objetiva para ser tan localistas. La razón es que los humanos, y no los chimpancés, han llegado a dominar gran parte del planeta y la biosfera. Lo hemos hecho por el poder de nuestra cultura y tecnología; estas nos han permitido incrementar nuestra población de forma considerable, colonizar zonas del planeta que de otra forma no habrían sido habitables para nosotros, y te-

ner un impacto e incluso amenazar aspectos de la biosfera. Comprender lo que causó este desarrollo único es una de las cuestiones más fascinantes, quizá incluso una de las más acuciantes, a las que los científicos se enfrentan hoy. Una clave del soporte genético de este desarrollo puede muy bien encontrarse comparando los genomas de los humanos actuales con los de los neandertales. En efecto, es esta sensación la que me permitió seguir avanzando durante años de lucha con las minucias técnicas de la recuperación del genoma neandertal.

Según los registros fósiles, los neandertales aparecieron entre hace 300 000 y 400 000 años y existieron hasta hace unos 30 000 años. A lo largo de toda su existencia su tecnología no cambió mucho. Continuaron produciendo una tecnología muy parecida a lo largo de su historia, una historia que ha sido tres o cuatro veces más larga que la que han experimentado los humanos modernos. Solo muy al final de su historia, cuando pudieron haber entrado en contacto con los humanos modernos, su tecnología sí cambió en algunas regiones. A lo largo de los milenios, se expandieron y retrajeron según los cambios de clima de las zonas en las que vivieron en Europa y Asia occidental, pero no se expandieron cruzando aguas abiertas por otras partes inhabitadas del mundo. Se expandieron de manera muy parecida a como otros grandes mamíferos habían hecho antes que ellos. En esto, fueron parecidos a otras formas extinguidas de humanos que habían existido en África durante los pasados 6 millones de años y en Asia y Europa durante unos 2 millones de años.

Todo esto cambió de forma abrupta cuando los humanos plenamente modernos aparecieron en África y se expandieron por el mundo en forma de muchedumbre de reemplazamiento. En los 50 000 años que siguieron —un tiempo entre cuatro y ocho veces más corto que toda la longitud del tiempo en que existieron los neandertales— la muchedumbre de reemplazamiento no solo se estableció en casi cada mota de tierra del planeta, sino que

desarrolló tecnología que le permitió ir a la luna y más allá. Si hay un soporte genético de esta explosión cultural y tecnológica, como estoy seguro de que lo hay, los científicos tendrían que acabar por entenderlo comparando los genomas neandertales con los genomas de las personas vivas hoy.

Estimulado por este sueño, me corroían las ganas de empezar a buscar diferencias cruciales entre neandertales y humanos actuales una vez que Udo acabó de mapear todos los fragmentos neandertales en el verano de 2009. Pero también me di cuenta de que tenía que ser realista sobre lo que nos dirían esas diferencias. El secreto de la genómica es que aún no sabemos casi nada de cómo se traducen los genomas en las particularidades de un individuo que vive y respira. Si yo secuenciara mi propio genoma y se lo mostrara a un genetista, podría decir de manera aproximada de qué parte del planeta veníamos yo o mis ancestros al encajar variantes de mi genoma con los patrones geográficos de variantes en todo el globo. Sin embargo, no podría decir si era inteligente o mudo, alto o bajo, o casi nada más que importara sobre cómo funciono como ser humano. En efecto, a pesar del hecho de que la mayoría de los esfuerzos por comprender el genoma han nacido de los esfuerzos por combatir la enfermedad, para la gran mayoría de las enfermedades, como el Alzheimer, cáncer, diabetes o enfermedades del corazón, nuestro conocimiento actual solo nos permite asignar vagas probabilidades a la posibilidad de que un individuo las contraiga. Así, en mis momentos realistas, me daba cuenta de que no seríamos capaces de identificar directamente los soportes genéticos de las diferencias entre neandertales y humanos modernos. No habría ninguna evidencia contundente que encontrar.

Aun así, el genoma neandertal era una herramienta que nos permitiría empezar a hacernos preguntas sobre qué separó a los neandertales de los humanos —una herramienta que no solo nosotros podríamos usar, sino todas las generaciones futuras de

biólogos y antropólogos—. Estaba claro que el primer paso sería hacer un catálogo de todos los cambios genéticos ocurridos en los ancestros de las personas hoy vivas después de separarse de los ancestros de los neandertales. Estos cambios serían muchos, y la mayoría de ellos no tendrían grandes consecuencias, pero los acontecimientos genéticos cruciales en los que estábamos interesados estarían escondidos entre ellos.

La tarea crucial de hacer la primera versión de este catálogo de todos los cambios en exclusiva en los seres humanos la llevó a cabo Martin Kircher junto con su supervisora Janet Kelso. Lo ideal era que este catálogo contuviera todos los cambios genéticos que están presentes hoy en todos o casi todos los humanos y que ocurrieron después de que los humanos modernos se separaran de los ancestros de los neandertales. El catálogo tendría por tanto que listar posiciones en el genoma en las que el neandertal se parecía al chimpancé y otros simios mientras que todos los humanos, con independencia de dónde vivieran en el planeta, diferían de los neandertales y los simios. Sin embargo, en 2009 había muchas limitaciones para que este catálogo fuera completo y correcto. Lo primero de todo, habíamos secuenciado solo aproximadamente un 60% del genoma neandertal, así que el catálogo solo podría completarse en un 60%. Segundo, aun cuando viéramos una diferencia con respecto al genoma humano de referencia en una posición en la que el genoma neandertal se pareciera al genoma del chimpancé, ello no querría decir por fuerza que todos los humanos actuales se parecieran al genoma humano de referencia. De hecho, la mayoría de estas posiciones variarían entre los humanos, pero nuestro conocimiento sobre la variación genética entre los humanos era demasiado incompleto como para diferenciar hallazgos reales y falsos positivos. Por fortuna, había varios grandes proyectos en marcha destinados a describir el grado de variación genética entre humanos, incluido el Proyecto 1000 genomas, cuya meta era detectar todas las variantes del ge-

noma humano presentes en un 1% o más de los humanos. Pero este proyecto apenas se estaba iniciando. Una tercera limitación aparente era que nuestro genoma era un compuesto de secuencias de solo tres neandertales, y para la mayoría de las posiciones, solo teníamos la secuencia de un único individuo neandertal. Sin embargo yo no consideraba esto demasiado problemático. Mientras uno solo de los neandertales tuviera la versión ancestral tipo simio en una posición dada, no importaba si otros neandertales que no habíamos secuenciado llevaran la nueva versión derivada que veíamos en los humanos actuales. El conocimiento de que la variante ancestral estaba en al menos un neandertal nos decía que todavía había estado por allí cuando los neandertales y los humanos modernos se separaron, quizá hace 400 000 años. Esto la hacía un candidato potencial para definir lo que podía ser universalmente humano moderno.

Janet y Martin compararon el genoma humano de referencia con los genomas de chimpancé, orangután y macaco e identificaron todas las posiciones en las que diferían. Después compararon estos cuatro genomas con nuestras secuencias de DNA neandertal, teniendo cuidado de comparar solo aquellas secuencias de DNA neandertal de las cuales teníamos certeza absoluta en cuanto a de qué parte del genoma venían. Encontraron que teníamos cobertura de secuencia neandertal para 3 202 190 posiciones en las que los cambios de nucleótido se habían dado en el linaje humano. Para la gran mayoría de estas posiciones, los neandertales se parecían a nosotros, lo cual no era sorprendente, dado que estamos mucho más relacionados con los neandertales que con los simios. Pero para un 12,1% de estas posiciones, los neandertales se parecían a los simios. Comprobaron entonces si las variantes ancestrales vistas en los simios y neandertales seguían estando presentes en algunos humanos actuales; en la mayoría de los casos encontraron en los humanos actuales tanto la variante ancestral como la nueva. Esto no era sorprendente, por-

que las mutaciones responsables se habían producido en una época bastante reciente. Pero algunas de estas nuevas variantes, a nuestro juicio, estaban presentes en todos los humanos actuales. Estas eran las posiciones que consideramos especialmente interesantes.

Lo más tentador eran aquellos cambios que podían tener consecuencias funcionales. El primero y principal era el que cambia los aminoácidos en proteínas. Por supuesto, las proteínas son codificadas por bandas de secuencia de DNA en el genoma llamado «genes». Las proteínas se componen de cadenas de veinte aminoácidos diferentes y llevan a cabo muchas funciones en nuestros cuerpos, como regular la actividad de los genes, construir tejidos y controlar nuestro metabolismo. Por consiguiente, es más probable que tengan consecuencias para un organismo los cambios en las proteínas que una mutación escogida al azar entre un grupo de todas las mutaciones que identificamos. Estas mutaciones potencialmente significativas —que dan como resultado la sustitución de un aminoácido de una proteína por otro, o cambiar la longitud de una proteína— se dan con mucha menos frecuencia durante la evolución que las sustituciones de nucleótidos que no causan alteraciones tan dramáticas. Al final, Martin me mostró una lista de 78 posiciones de nucleótidos alteradores de aminoácidos en las que, por lo que sabíamos, todos los humanos actuales eran similares entre sí, pero diferentes del genoma neandertal y de los simios. Esperábamos tanto añadir como quitar mutaciones de esta lista, ya que tanto el genoma neandertal como el proyecto de los 1000 genomas estaban cerca de su finalización. Así que se podría conjeturar con prudencia que el número total de cambios de aminoácidos que se hubieran extendido a todos los humanos modernos desde que nos separamos de los neandertales sería inferior a 200.

En el futuro, cuando tengamos una comprensión mucho más completa de cómo influye cada proteína en nuestro cuerpo y

nuestra mente, será frecuente que los biólogos puedan adjudicar una función a un aminoácido en particular en una proteína, e identificar si funcionaba de la misma manera en los neandertales. Por desgracia, este conocimiento exhaustivo de nuestro genoma y biología es probable que solo se consiga mucho después de que me haya unido a los neandertales en la muerte. Sin embargo, me reconforta algo pensar que el genoma neandertal (y sus versiones mejoradas que nosotros y otros conseguiremos en el futuro) será una contribución esencial a este empeño.

Pero, por el momento, las 78 posiciones de aminoácidos nos proporcionaron muy pocas revelaciones, y solo las más toscas. Solo observando cuáles eran los cambios nos dio muy poca idea de qué podría haber cambiado en la biología del primer individuo que llevaba una variante nueva. Pero algo que sí observamos fue que había cinco proteínas que llevaban cada una, no una, sino dos diferencias de aminoácido. Parecía improbable que esto hubiera ocurrido por casualidad si un total de 78 mutaciones estaban esparcidas al azar entre las 20 000 proteínas codificadas por el genoma. Por tanto, estas cinco proteínas podrían haber alterado recientemente sus funciones en la historia humana. Es incluso posible que perdieran sus funciones o importancia hasta el punto de que ahora fueran libres de acumular cambios liberadas de cualquier limitación impuesta sobre ellas por su función. De cualquier manera, sabíamos que teníamos que observar más de cerca estas cinco proteínas.

La primera proteína con dos cambios estaba relacionada con la motilidad espermática. No me sorprendió mucho. Entre los humanos o los primates no humanos por igual, se sabe que los genes relacionados con la reproducción del macho y la motilidad espermática cambian con frecuencia, quizá debido a la competencia directa entre los espermatozoides de diferentes machos cuando las hembras copulaban con parejas múltiples. Esta competencia abierta supone que cualquier cambio genético que haga

que un espermatozoide tenga más probabilidades de fecundar el óvulo que sus competidores, quizá nadando más deprisa, expandirá la población. Se considera que un cambio así está bajo selección positiva, porque incrementa la posibilidad de que un individuo con la mutación dejará progenie en la generación siguiente. De hecho, cuanta más competencia directa hay entre espermatozoides de diferentes machos en una sola hembra (cara a cara, por así decirlo), más selección positiva se produce. Así que hay una correlación entre el grado de promiscuidad en una especie y el grado en el que puede detectarse la selección positiva en genes que intervienen en la reproducción del macho. Entre los chimpancés, donde una hembra en celo tiende a copular con todos los machos que estén disponibles, hay más pruebas de selección positiva sobre estos genes que entre los gorilas, donde un macho dominante de espalda plateada tiende a monopolizar a todas las hembras de su grupo. Los espermatozoides de un gorila patriarcal de espalda plateada tienen todo el tiempo que necesiten para fertilizar el óvulo, ya que los espermatozoides de un macho más joven o subordinado no pueden participar en la carrera. O, más bien, la competencia ya se ha dado en una fase anterior del nivel social, cuando se estableció la jerarquía del grupo. Es sorprendente que, incluso proporciones toscas, como el tamaño de los testículos en relación con el cuerpo, reflejan esta diferencia en la competición de los machos por las fertilizaciones. Mientras que los chimpancés tienen grandes testículos, y los todavía más promiscuos pero más pequeños bonobos cargan con fábricas de espermatozoides aún más impresionantes, el intimidante enorme gorila de espalda plateada tiene pequeños testículos escuchimizados. Parece que los humanos, medidos tanto por el tamaño de los testículos como por los datos de selección positiva en genes importantes para la reproducción del macho, están en algún lugar entre los extremos de la promiscuidad del chimpancé y la monogamia del gorila, lo cual sugiere que nuestros ancestros pu-

dieron no ser tan distintos de nosotros, vacilando entre una fidelidad emocionalmente gratificante y alternativas sexualmente seductoras.

La segunda proteína de la lista de Martin que lleva dos cambios no tiene función conocida —lo cual es reflejo de nuestro insuficiente conocimiento de lo que hacen los genes—. Una tercera estaba implicada en la síntesis de las moléculas necesarias para producir proteínas en las células. No tenía pistas sobre lo que esto suponía, y me preguntaba si el gen de hecho tenía funciones adicionales que nos eran desconocidas; una posibilidad en absoluto improbable dado nuestro limitado conocimiento sobre la función de los genes. Pero las dos proteínas restantes con dos cambios aminoácidos estaban ambas presentes en la piel —una estaba implicada en cómo se unen las células unas a otras, sobre todo mientras se curan las heridas, y la otra estaba presente en las capas superiores de la piel, en ciertas glándulas sudoríparas y en las raíces del cabello—. Esto sugería que algo había cambiado en la piel durante el curso de la evolución humana reciente. Es probable que trabajos futuros muestren que la primera proteína tenga algo que ver con la tendencia a curarse más deprisa las heridas en los simios que en los humanos, y que la segunda tenga algo que ver con nuestra carencia de pelaje. Pero por el momento no es posible decirlo. Simplemente somos bastante ignorantes sobre cómo afectan los genes al funcionamiento de nuestro cuerpo.

Una versión futura del catálogo de Martin y Janet, basado en una versión completa del genoma neandertal y en más conocimientos sobre la variación genética en las personas actuales, contendrá posiciones del genoma humano que cambiaron entre quizá hace 400 000 años, cuando nuestros ancestros se separaron de los neandertales y se expandieron para estar presentes en todos los humanos, y hace unos 50 000 años, cuando la «muchedumbre de reemplazamiento» se dispersó por el globo. Después de ese tiempo, no se podrían establecer más cambios en *todos* los hu-

manos sencillamente porque los humanos estaban repartidos por los continentes. Basándonos en las cifras que obtuvimos utilizando las partes del genoma neandertal que teníamos, calculamos que el número total de posiciones de secuencias de DNA en las que los neandertales diferían de todos los humanos actuales sería del orden de 100 000. Esto representaría una respuesta completa básica a la pregunta de qué es lo que hace «modernos» a los humanos modernos, al menos desde una perspectiva genética. Si, en un experimento imaginario, uno cambiara en un humano moderno cada uno de estos 100 000 nucleótidos a su estado ancestral, el resultado sería un individuo que, en sentido genético, sería similar al ancestro común de los neandertales y los humanos modernos. En el futuro, uno de los objetivos de investigación más importantes en antropología será el estudio de este catálogo para identificar aquellos cambios genéticos que sean relevantes para la forma de pensar o de comportarse de los humanos modernos.

CAPÍTULO 21

LA PUBLICACIÓN DEL GENOMA

En ciencia, hay muy pocos resultados definitivos. De hecho, poco después de llegar a una conclusión, a menudo tras grandes esfuerzos, es de esperar que aparezcan desarrollos inminentes que la mejorarán. En un determinado momento es necesario trazar una línea y decir que ha llegado el momento de publicar. En el otoño de 2009, sentí que habíamos alcanzado ese punto.

El artículo que íbamos a escribir sería un hito en varios sentidos. Por encima de todo, era el primer genoma secuenciado de una forma extinta de humanos. A decir verdad, el grupo de Eske Willerslev en Copenhague, Dinamarca, había publicado aquella primavera un genoma a partir de un mechón de cabello esquimal. Pero el mechón de cabello tenía solo 4000 años y se había conservado en el permafrost, y 80% de su DNA era humano. El título de su artículo decía que habían secuenciado un «paleoesquimal extinguido», aunque me preguntaba lo que pensarían los esquimales actuales sobre la aseveración de que estaban extinguidos. Los neandertales eran antiguos de verdad, estaban extintos de verdad, eran una forma diferente de humanos y de crucial importancia evolutiva como parientes más próximos de todos los humanos actuales, con independencia de dónde vivan en el planeta. También sentía que habíamos establecido la base técnica para mucho trabajo en el futuro; a diferencia de los cadáveres conservados en el permafrost, los huesos que habíamos usado no se habían conservado de una manera extraordinaria. Eran semejantes a miles de huesos humanos y de animales encontrados en cuevas en muchos lugares del mundo. Esperaba que las técnicas que habíamos desarrollado pudieran usarse ahora para recuperar genomas completos de muchos de estos restos. El hallazgo que era más probable que creara controversia era que los neandertales habían aportado partes de su genoma a pueblos actuales de Eura-

sia. Pero, como habíamos llegado a esta conclusión tres veces utilizando tres diferentes métodos, sentía que habíamos enterrado este tema de forma definitiva. El trabajo futuro clarificaría con toda seguridad los detalles de cuándo, dónde y cómo ocurrió, pero nosotros habíamos demostrado definitivamente que *había* ocurrido. Había llegado el momento de presentar al mundo nuestros resultados.

Mi ambición era escribir un artículo que fuera tan comprensible como fuera posible para el gran público, ya que no solo los genetistas estarían interesados en lo que habíamos hecho, sino también los arqueólogos, los paleontólogos y otros. De hecho me estaban presionando desde varias direcciones para que publicara nuestros descubrimientos. El editor de *Science* me preguntaba cuándo le remitiríamos el artículo, y los periodistas no paraban de llamar, no solo a mí sino también a otros miembros del equipo, para preguntar cuándo publicaríamos. Empecé a sentirme cada vez más incómodo de dar charlas científicas más centradas en problemas técnicos que en lo que el genoma nos decía, aun cuando todo el mundo se daba cuenta de que para entonces teníamos que tener resultados interesantes que comunicar. A pesar de la presión, sentía que era fundamental mantener en secreto nuestros hallazgos hasta que se publicaran. Me preocupaba que una de las casi cincuenta personas al corriente le dijera a un periodista que habíamos encontrado pruebas de flujo de genes neandertales en personas actuales. Si eso ocurría, la noticia estaría rápidamente en todos los medios.

Otra preocupación recurrente era que otro grupo publicara secuencias neandertales antes que nosotros. Esta segunda preocupación estaba centrada, por supuesto, en una persona en particular: nuestro anterior socio y actual competidor, Eddy Rubin, en Berkeley, del que sabíamos que había tenido acceso a huesos neandertales y a los recursos necesarios para trabajar con ellos. Pensaba en todos los esfuerzos empleados por todos los implica-

dos en este proyecto a lo largo de los últimos cuatro años, e imaginaba cómo les sentaría despertarse con titulares de periódicos que dijeran que los neandertales habían aportado genes a las personas actuales, basándose en quizá diez veces menos datos de los que nosotros teníamos, analizados con precipitación. Me sorprendía preocupándome por esto cuando intentaba dormir por la noche, lo cual no solía ocurrirme.

Me era imposible esconder mis preocupaciones durante nuestras reuniones telefónicas semanales. Empecé a repetir que nadie estaba autorizado a decir nada a la prensa sobre ningún aspecto de nuestros resultados por muy insistente que pudiera ser un periodista. Que ni un solo miembro del consorcio lo hubiera hecho nunca es prueba de la lealtad de todo el equipo. También empecé a presionar a los miembros del consorcio para que me entregaran una descripción por escrito de lo que cada uno había hecho. Esto era más difícil de conseguir. Algunos científicos se sienten tan impulsados por la curiosidad intelectual que una vez que encuentran la solución a un problema se mostrarán remisos a pasar por el tedio de redactarlo y publicarlo. Esto, por supuesto, es malísimo. No solo el público, que en último término es quien ha financiado la investigación, tiene derecho a conocer los resultados, sino que otros científicos también necesitan enterarse de los detalles sobre cómo se han conseguido los resultados para poder mejorarlos y trabajar sobre ellos. De hecho, cuando se considera a científicos para nombramientos y promociones, la razón principal por la que se les juzga no es por cuántos proyectos interesantes han iniciado, sino por cuántos proyectos han acabado y publicado. Algunos miembros del consorcio entregaron sus textos pronto, otros más tarde y en forma de borrador, y otros nunca. Pensé en cómo presionar incluso a colegas distinguidos para que entregaran sus escritos y desemboqué en una idea: tenía que aprovecharme de su vanidad.

La mayoría de los científicos, como la mayoría de las personas, quieren que se les reconozca un trabajo bien hecho. Se crecen con las veces que sus artículos se citan en otras publicaciones y con las invitaciones que reciben para pronunciar conferencias. El reparto del crédito en nuestro caso sería difícil. Varios grupos y más de cincuenta científicos habían contribuido a nuestro proyecto y aparecerían como autores en el artículo, pero sería difícil atribuir créditos individuales por cada uno de los diferentes análisis que se habían hecho, a menudo muy creativos y laboriosos. A pesar de ello, todos habían trabajado de manera desinteresada por la meta común, pero parecía justo conceder algún crédito individual. La cuestión a la que me enfrentaba era cómo hacerlo, y al mismo tiempo estimular a la gente para que escribiera más deprisa y bien.

Como es habitual en muchos artículos científicos largos, la mayoría de los resultados presentados en nuestro artículo se ofrecería en forma de material complementario que no se incluiría en la revista impresa, sino que se publicaría electrónicamente en la página web de la revista. El grueso de esta considerable pila de material lo constituirían las minucias técnicas que interesaban solo a los expertos. Por lo general, los autores del material complementario son los mismos y aparecen en el mismo orden que en el artículo. Tomé la decisión de cambiar esto. Propuse que cada sección de este material complementario tuviera autores independientes, e incluyera un autor responsable al que los lectores interesados podrían dirigirse en caso de tener preguntas. Este sistema dejaría mucho más claro quién había hecho qué experimento y qué análisis. También haría a cada persona responsable de la calidad de la sección, ya que cualquier reconocimiento —o reproche— se dirigiría, al menos en parte, a ella. Para mejorar aún más la calidad, asignamos a un miembro del consorcio no implicado en ese aspecto particular del trabajo que leyera con cuidado estas secciones complementarias para encontrar errores

y fallos en la presentación. Todo ello ayudó. De hecho, la gente entregó sus secciones complementarias, que acabaron creciendo hasta 19 capítulos y 174 páginas. Mi tarea consistió en modificar estas secciones y escribir el texto principal que se publicaría en la revista. En esto, fue de gran ayuda el siempre enérgico David Reich. Hubo muchos correos electrónicos sobre cambios del texto del artículo principal, pero por fin, a primeros de febrero de 2010, Ed Green se lo remitió todo a *Science*.

El primero de marzo recibimos comentarios de tres revisores, y casi tres semanas más tarde recibimos comentarios de un cuarto revisor. No es raro que los revisores encuentren muchas cosas de las que quejarse en un manuscrito. Sin embargo, en este caso no tuvieron mucho que decir: los dos años que habíamos pasado intentando encontrar defectos en el trabajo de otros nos habían permitido encontrar nosotros mismos la mayoría de los puntos débiles. De todas formas, hubo muchas idas y venidas sobre el texto con el editor. Al final, el artículo apareció el 7 de mayo de 2010 con sus 174 páginas de material complementario[1]. Este artículo era «más un libro que un artículo científico», como dijo un paleontólogo.

El día en que apareció el artículo, las dos principales instituciones del mundo que proveen a la comunidad científica de acceso a las secuencias del genoma, el Instituto Europeo de Bioinformática de Cambridge, Inglaterra, y el Navegador de Genomas (Genoma Browser) mantenido por la Universidad de California en Santa Cruz, Estados Unidos, pusieron el genoma neandertal a disposición de todo el mundo. Además, facilitamos la disponibilidad en una base de datos pública de todos los fragmentos de DNA que habíamos secuenciado de los huesos neandertales, incluidos los que habíamos considerado de origen bacteriano. Quería que todo el mundo pudiera comprobar cada detalle de lo que habíamos hecho. Y quería que, si podían, hicieran un trabajo mejor.

Con la aparición del artículo llegó el previsible frenesí de los medios. Sin embargo, mis anteriores tratos con los periodistas me habían dejado algo hastiado, por lo que dejé a Ed, David, Johannes y el resto del consorcio que lidiaran con la prensa. De hecho, el día en que se publicó nuestro artículo, tenía previsto pronunciar una importante conferencia en la Universidad Vanderbilt de Nashville, Tennessee. Aquel viaje, que había planificado hacía mucho tiempo, era la mejor manera para mí de evitar el bombo y platillo. Pero el entusiasmo se contagió a mis muy amables huéspedes de Nashville. Cuando se enteraron de que alguien que sonaba bastante raro había llamado preguntando por mí al hotel, se preocuparon por mi seguridad, pensando en cristianos fundamentalistas que podrían estar en contra de un origen evolutivo de los humanos. Hicieron que la policía rastreara la llamada. Procedía del campus universitario; por alguna razón, esto les puso más nerviosos todavía, así que hicieron que dos agentes de policía de paisano me siguieran por todos los sitios del campus a los que fui. Era la primera vez que tenía guardaespaldas mientras daba una conferencia. Aprecié la preocupación por mi seguridad, y la atención hizo que me sintiera importante. Pero aquellos dos hombres enormes, con sus trajes oscuros y auriculares, que examinaban con suspicacia a todos los que se me acercaban, hicieron algo incómoda la convivencia con los profesores y los estudiantes después de la conferencia.

El artículo del neandertal apareció la semana anterior al encuentro sobre el genoma de Cold Spring Harbor de 2010, así que fui directamente de Nashville a Long Island. Disfruté mucho presentando nuestros principales descubrimientos en el mismo auditorio donde, cuatro años antes, había anunciado nuestra intención de llevar a cabo el proyecto. Acabé mi charla diciendo que esperaba que el genoma neandertal supusiera un recurso útil para los científicos del futuro. Y el futuro empezó solo cinco minutos después de que bajara del estrado.

El orador que me siguió fue Corey McLean, un estudiante de posgrado de la Universidad de Stanford. Cuando me senté, pensé para mis adentros que no le envidiaba; hablar después de una charla que había atraído mucha atención no era fácil. Pero enseguida me arrepentí de esta actitud condescendiente. Corey hizo una presentación brillante. Había analizado los genomas de humanos y simios e identificado un total de 583 grandes trozos de DNA perdido en humanos pero presente en simios. Entonces había examinado qué genes estaban en esas regiones e identificó varios genes interesantes que se habían perdido en humanos. Uno de ellos codificaba una proteína que se expresaba en los huesos penianos, que son estructuras de los penes de los simios que hacen que los machos eyaculen muy deprisa. Estos huesos no existen en los humanos, lo cual nos permite disfrutar de relaciones sexuales prolongadas. El gen que Corey había descubierto que se había perdido bien podía ser la razón de esto. Otro trozo que los humanos habían perdido codificaba una proteína que podía limitar el grado de división de las neuronas y podía tener algo que ver con cómo había crecido de tamaño el cerebro de los humanos. ¡Aquello era fascinante! Pero lo que más me satisfizo fue que, en los pocos días en que había estado disponible públicamente el genoma neandertal, Corey ya había examinado el genoma neandertal para ver qué eliminaciones compartían los humanos actuales con los neandertales. Así es como yo había esperado que se utilizara nuestro trabajo, como una herramienta que permitiera que otros ampliaran su propia investigación calculando el tiempo en que se habían dado los cambios durante la evolución humana. Corey había descubierto que también los neandertales tenían la eliminación de los huesos penianos, así que de inmediato aprendimos algo sobre la anatomía íntima de los neandertales que el registro fósil no nos podía decir. La eliminación relacionada con el tamaño del cerebro también era compartida por los neandertales, un hallazgo que habríamos adelantado,

dado nuestro conocimiento a partir de fósiles de que sus cerebros eran tan grandes como los nuestros. Pero algunos de los otros trozos que aún no se habían investigado no estaban eliminados de los neandertales. El trabajo futuro mostraría si verdaderamente estaban ausentes de todos los humanos actuales, y, si era así, si habían tenido consecuencias probables sobre en qué se diferenciaban los humanos actuales de los neandertales.

No pude encontrar a Corey después de la sesión por las numerosas personas que querían hablar tanto con él como conmigo, pero al día siguiente le encontré y le dije cuánto había apreciado su trabajo. Estaba tan emocionado con lo que había hecho que tuve que aguantarme las ganas de abrazarle. Por lo que yo sabía, era la primera persona que había utilizado nuestro genoma para su investigación.

Este artículo del genoma neandertal recibió mucha más reacción por parte de la comunidad científica que cualquier otro artículo que hubiera publicado. Casi todos los comentarios fueron positivos, en especial el de John Hawks, de la Universidad de Wisconsin-Madison. Paleontólogo formado con Milford Wolpoff, John es uno de los arquitectos de la hipótesis multirregional. Es bastante influyente en antropología a través de su blog, donde debate a conciencia y con perspicacia los nuevos artículos e ideas en antropología. «Estos científicos han hecho un inmenso regalo a la humanidad», escribió en su blog. «El genoma neandertal nos da una imagen de nosotros mismos, desde el exterior mirando hacia adentro. Vemos, y ahora aprendemos de ello, los cambios genéticos esenciales que nos hacen humanos: las cosas que hicieron posible nuestra emergencia como especie global… Esto es lo que tendría que ser la antropología». Por supuesto, nuestro grupo estaba encantado. Solo Ed intentó mantener una fría distancia: envió un correo a todo el consorcio diciendo: «¿Puede alguien conseguirle un poco de oxígeno a John Hawks?».

Solo una reacción sólidamente contraria me llamó la atención, la del conocido paleontólogo Erik Trinkaus. Conociendo su tendencia negativa hacia la idea de que el estudio de la genética pudiera hacer una verdadera aportación a la antropología, le había enviado nuestro artículo unos días antes de la publicación para permitirle estudiarlo con tiempo antes de que los periodistas le llamaran para pedirle su opinión al respecto. Había esperado que la lectura de nuestro artículo le convenciera de que habíamos hecho un buen trabajo, e incluso habíamos intercambiado dos correos en los que trataba de resolver lo que creía que eran malinterpretaciones suyas sobre lo que habíamos dicho en el artículo. Dados mis esfuerzos por contactar con Erik, me quedé decepcionado al recibir un correo de una periodista de París pidiéndome mi reacción a unos extractos de lo que debieron de ser unos comentarios bastante extensos que Erik Trinkaus le había enviado sobre nuestro artículo. Ella le citaba diciendo:

> En resumen, hemos tenido datos anatómicos fósiles abundantes de flujo de genes entre neandertales y humanos modernos, lo más probable como resultado de la absorción de poblaciones neandertales en aquellas de humanos modernos en expansión hace unos 40 000 años. En otras palabras, los nuevos datos de DNA y análisis no [añaden] nada nuevo al debate… La mayoría de los autores del nuevo artículo son tan solo ignorantes de esta literatura y no comprenden los datos fósiles, la diversidad humana viva o el contexto conductual / arqueológico de los cambios evolutivos humanos… Resumiendo, el artículo es el resultado de un análisis muy caro y tecnológicamente complicado que adelanta muy poco el estudio de los orígenes humanos modernos y de los neandertales, y en algún aspecto lo retrasa.

Me asombró que Erik pudiera pensar de verdad que sabíamos *menos* después de secuenciar el genoma neandertal de lo que sabíamos antes. Acabé diciendo: «Me entristece que el Dr. Trinkaus piense que esto añade tan poco a nuestro conocimiento de los neandertales». A pesar de su reacción, confiaba en que otros verían que la genética y la paleontología podían complementarse.

Hubo muchos otros que se interesaron por el genoma neandertal —y quizá los más sorprendentes fueron algunos cristianos

fundamentalistas de Estados Unidos—. Pocos meses después de que apareciera nuestro artículo, conocí a Nicholas J. Matzke, un candidato al doctorado del Centro de Genómica Teórica Evolutiva de la Universidad de California en Berkeley. Sin saberlo ni yo ni los demás autores, parecía que nuestro artículo había causado todo un aluvión de controversias en la comunidad creacionista. Nick me explicó que hay dos clases de creacionistas. Primero están los «creacionistas de la Tierra joven» que creen que la Tierra, los cielos, y toda la vida fueron creados por actos directos de Dios en algún momento entre hace 5700 y 10 000 años. Suelen considerar a los neandertales como «plenamente humanos», y a veces dicen que eran otra «raza», hoy extinta, que se dispersó después de la caída de la Torre de Babel. Como consecuencia, los creacionistas de la Tierra joven no tenían problemas con nuestro hallazgo de que los neandertales y los humanos modernos se habían mezclado. Y luego están los «creacionistas de la Tierra antigua», que aceptan que la Tierra es antigua, pero rechazan la evolución por medios naturales, no divinos. Una importante secta de la Tierra antigua es «Razones para creer», encabezada por un tal Hugh Ross. Cree que los humanos modernos fueron especialmente creados en torno a hace 50 000 años y que los neandertales no eran humanos, sino animales. A Ross y a otros creacionistas de la Tierra antigua no les gustó el descubrimiento de que los neandertales y los humanos modernos se habían mezclado. Nick me envió una transcripción de un programa de radio en el que comentaba nuestro trabajo, diciendo que el cruce era previsible «porque la historia del Génesis es la de la implicación de la humanidad primitiva en prácticas de comportamiento malvadas», y que Dios había tenido que «dispersar a la fuerza a la humanidad por la faz de la Tierra» para detener este tipo de cruce, que comparó con un «bestialismo animal».

Estaba claro que nuestro artículo estaba alcanzando a un público más amplio de lo que nunca imaginamos. Pero a la mayoría

de las personas no les chocaba la idea de que sus ancestros se hubieran cruzado con los neandertales. De hecho, a muchos parecía intrigarles la idea —algunos, como había ocurrido ya antes, incluso se ofrecían voluntarios para ser examinados en busca de herencia neandertal—. A principios de septiembre, empecé a observar un patrón: eran sobre todo hombres los que me escribían. Busqué en mis correos electrónicos y descubrí que me habían escrito cuarenta y siete personas para decir que creían que eran neandertales —y de estos, ¡cuarenta y seis eran hombres!—. Cuando se lo conté a mis estudiantes, sugirieron que quizá había más hombres interesados en la investigación genómica que mujeres. Pero no parecía ser el caso, ya que me habían escrito doce mujeres no porque pensaran que eran neandertales, ¡sino porque pensaban que lo eran sus cónyuges! Es interesante que no hubiera escrito un solo hombre haciendo este tipo de afirmación sobre su mujer (desde entonces, sin embargo, sí lo ha hecho un hombre). Bromeé sobre que aquí se estaban dando algunos patrones interesantes de herencia genética que necesitábamos investigar. Pero estaba claro que estábamos contemplando los efectos de las ideas culturales sobre cómo eran los neandertales físicamente. En la tradición popular, los neandertales son grandes, robustos, musculados, algo toscos, y quizá un poco simples. Algunas de estas características pueden considerarse aceptables e incluso positivas en hombres, pero no se consideran convencionalmente atractivas en mujeres. Esta idea la pude constatar cuando la revista *Playboy* me llamó para pedirme una entrevista sobre nuestro trabajo. Acepté, pensando que quizá esta sería mi única oportunidad de aparecer en *Playboy*. La revista terminó escribiendo una historia de cuatro páginas titulada «Amor neandertal: ¿dormirías con esta mujer?». Iba acompañada de la ilustración de una mujer robusta y muy sucia blandiendo una lanza en la cima de una montaña nevada. Es probable que esta imagen tan poco atractiva

explique lo difícil que es que un hombre admita que está casado con una neandertal.

Otra cuestión que despertaba mucho interés es qué quería decir que la gente de fuera de África tuviera algo de DNA neandertal. De nuevo parecía que los neandertales tenían mala reputación. *Jeune Afrique*, una revista semanal de noticias que cubre temas políticos y culturales en el África francófona, marcó el tono acabando su historia sobre nuestros resultados con lo siguiente: «Pero algo está… claro; dada la apariencia simiesca de los neandertales, los que todavía creen que los africanos subsaharianos son menos avanzados que las personas de piel blanca no entienden nada»[2].

En general, descubrí que las reacciones de la gente a nuestro trabajo decían más de su forma de ver el mundo que de cualquier cosa que hubiésemos podido saber de lo que pasó hace 30 000 o 40 000 años. Por ejemplo, había muchos que preguntaban cuáles podrían ser los beneficios de las piezas neandertales de DNA que le habían llegado a la gente de fuera de África. Aunque esta podía ser una cuestión relevante, también me ponía en guardia, porque parecía suponer que debía de haber algo positivo en estos segmentos de DNA porque existieran en europeos o asiáticos, que a menudo tienden a considerarse superiores a otras poblaciones. Para mí, la hipótesis cero —es decir, la idea de base de la que uno parte cuando investiga un problema científico— siempre es que un cambio genético no tiene ninguna consecuencia funcional. Uno intenta entonces rechazar esa hipótesis —por ejemplo, en este caso, estudiando patrones de variación humanos—. Hasta ahora no habíamos visto indicios de cambios que llevaran a una diferencia de función, así que mi respuesta a estas preguntas era que no teníamos razones para rechazar nuestra hipótesis cero. Quizá lo único que estábamos viendo eran rastros del acto más natural de las relaciones intergrupales en el pasado remoto. Es cierto que todavía no lo habíamos examinado con detenimiento.

De hecho, al cabo de un año de la publicación del genoma neandertal, otros encontraron algo.

Peter Parham es uno de los principales expertos del mundo en el complejo histocompatible principal («major histocompatibility complex», MHC), quizá el más complejo sistema genético del genoma humano y el sistema sobre el que hice mi tesis doctoral en Upsala hace muchos años. El MHC codifica los antígenos de trasplante, proteínas que existen en casi todas las células de nuestro cuerpo. Su función es atrapar fragmentos de proteínas de virus y otros microbios que infectan la célula y transportarlos a la superficie de dicha célula, donde son reconocidos por las células inmunes. Estas células matarán entonces la célula infectada, limitando así la infección antes de que se extienda por el cuerpo. El MHC fue descubierto no a causa de su función normal de luchar contra las infecciones, sino a causa de la feroz reacción de rechazo lanzada por el sistema inmune contra los tejidos trasplantados, como piel, riñones o corazones. Este rechazo de los tejidos trasplantados, que dio a los antígenos de trasplante su nombre, es posible porque las proteínas de antígeno de trasplante son muy variables, codificadas por genes MHC que existen en decenas o incluso centenares de diferentes variantes. Así, cuando una persona recibe un órgano trasplantado de un individuo con el que no tiene parentesco, el donante siempre llevará diferentes variantes de antígeno de trasplante, y el sistema inmune del receptor reconocerá por ello el injerto como extraño y lo atacará. Se necesita un tratamiento inmunodepresor para toda la vida para contrarrestar esta reacción, incluso cuando el trasplante venga de un pariente del receptor y no sea por tanto demasiado distinto genéticamente. Por el contrario, se pueden hacer trasplantes entre gemelos idénticos casi sin ninguna complicación inmunológica, ya que llevan genes MHC idénticos, y por tanto antígenos de trasplante. Todavía no se comprende a fondo por qué los antígenos de trasplante son tan variables, pero quizá sea porque

la presencia de muchas variantes diferentes en los individuos permite que el sistema inmune distinga entre células infectadas y células sanas.

Peter Parham observó los fragmentos de DNA neandertal que se mapeaban con los genes MHC que codifican los antígenos de trasplante, y Ed Green, que para entonces se había trasladado a una plaza de profesor en la UC Santa Cruz, le ayudó a identificar aún más fragmentos que habíamos descartado al principio a causa de la inusual variabilidad de estos genes. Un año después de que apareciera nuestro artículo, informaron en un encuentro que una variante de un gen MHC en particular, que es común en europeos y asiáticos actuales, pero que no se había visto todavía en africanos, estaba presente en nuestro genoma neandertal. De hecho, afirmaban que casi la mitad de todas las copias de este gen que llevan los europeos y el 72% de las que llevan personas chinas procedían de neandertales. Dado que no más del 6%, como máximo, de los genomas totales de estas personas procedían de los neandertales, este incremento asombroso de la frecuencia de las variantes MHC sugiere que al menos ayudaron a la recién llegada muchedumbre de reemplazamiento a sobrevivir. Peter sugirió que como los neandertales ya llevaban viviendo fuera de África más de 200 000 años antes de encontrarse por primera vez con humanos modernos, su repertorio de variantes de gen MHC podría haberse adaptado a la lucha contra enfermedades locales de Eurasia y quizá ausentes de África. Así, una vez que un humano moderno recibía estos genes de los neandertales, esta ventaja llevaba a los genes a mayores frecuencias. En agosto de 2011, Peter y sus colegas publicaron un artículo en *Science* que describía estos hallazgos[3].

El 3 de diciembre de 2010, siete meses después de que apareciera nuestro artículo, recibí un correo de Laura Zahn, la editora de *Science* que se había encargado de nuestro artículo, con la noticia de que le habían concedido el AAAS Newcomb Cleveland

Prize. He conseguido algunos premios científicos a lo largo de mi carrera y siempre eran agradables estímulos para la confianza en mí mismo. Pero este fue especial. El Newcomb Cleveland Prize se estableció en 1923 y se otorga todos los años a los autores del mejor artículo o informe de investigación publicado en *Science*. Al principio se llamaba el premio de los 1000$, aunque para entonces ya se había incrementado a 25 000$. Lo que me gustaba más era que se otorgaba a todos los autores del artículo, así que reconocía lo que nuestro consorcio había conseguido colectivamente. Como me dijo Linda aquella noche: «Publicar un artículo en *Science* es muy importante. Pero ¿publicar el mejor artículo del año en *Science*? La mayoría no podría ni siquiera soñarlo».

Hablé con David y Ed, los otros dos autores principales del artículo, y convinimos en recoger el premio juntos en el encuentro de la AAAS en Washington DC, en febrero de 2011. Decidimos emplear el dinero en organizar un encuentro en Croacia, en el que los miembros del consorcio pudieran encontrarse en otoño de 2011 para debatir en qué dirección debería ir el análisis del genoma neandertal en el futuro. Esperaba que esta experiencia fuera una repetición del intenso encuentro de Dubrovnik de 2009. De hecho, para cuando recibí el correo de Laura Zahn, ya sabíamos que teníamos algo más que el genoma neandertal sobre el que debatir en este encuentro. Teníamos el genoma de otro humano extinto, de otra parte del mundo.

CAPÍTULO 22

UN DEDO MUY PECULIAR

El 3 de diciembre de 2009 estaba asistiendo a una reunión sobre el genoma de la rata en el laboratorio de Cold Spring Harbor. Estaba allí para describir un proyecto sobre la domesticación artificial de ratas en el que mi grupo había estado trabajando durante los últimos años. Mientras caminaba del comedor a la sala de conferencias, después del desayuno, sonó mi móvil. Era Johannes Krause, que llamaba desde Leipzig y sonaba emocionado de una forma rara. Le pregunté qué pasaba. Me preguntó si estaba sentado. Cuando le dije que no, me dijo que mejor me sentara antes de oír lo que tenía que decirme. Estaba empezando a preocuparme porque hubiera ocurrido algo horrible, y me senté.

Me preguntó si me acordaba de un pequeño hueso que habíamos conseguido de Anatoly Derevianko en Rusia (ver ilustración 22.1[*]). Anatoly es el presidente de la rama siberiana de la Academia de Ciencias rusa y uno de los arqueólogos rusos más destacados. Había iniciado su carrera en los años sesenta y no solo era muy influyente en el mundo académico ruso, sino que también estaba políticamente bien relacionado. A lo largo de los años que habíamos pasado trabajando con él, había llegado a apreciarle cada vez más, también como amigo. Anatoly tiene una sonrisa muy cálida y siempre le he encontrado educado y abierto a la colaboración. También es un arqueólogo de campo muy experto y físicamente muy activo. En el gran lago cerca de su instituto en Novosibirsk se le conocía por sus grandes travesías de kilómetros a nado. Aunque muy diferente de aspecto de mi profesor de egiptología, Rostislav Holthoer, que era de ascendencia rusa, Anatoly comparte con él la gran capacidad de amistad y lealtad que me parecen típicas de los rusos. Me siento muy afortunado de colaborar con él.

Unos años antes, Anatoly había visitado nuestro laboratorio y nos había dado unos pocos huesos pequeños en bolsas de plástico. Habían sido excavados de un lugar llamado cueva de Okladnikov en los montes Altai, al sur de Siberia, donde se encuentran Rusia, Kazajistán, Mongolia y China. Estos huesos de la cueva de Okladnikov estaban demasiado fragmentados como para decir de qué tipo de humano procedían, pero habíamos extraído DNA de ellos y mostraron que contenían mtDNA neandertal. Junto con Anatoly, publicamos entonces un artículo en *Nature* en 2007 que ampliaba el espacio en el que habían vivido los neandertales en al menos 2000 kilómetros más al este de lo que se había creído[1]. Hasta que se publicó nuestro artículo, no se había confirmado ningún neandertal al este de Uzbekistán.

En la primavera de 2009 Anatoly nos envió otro fragmento de hueso. Su equipo había descubierto aquel fragmento el año anterior en la cueva de Denisova, otra cueva de la región de Altai situada en un valle que conecta las estepas siberianas del norte con China y Mongolia al sur. El hueso era minúsculo, y no le había dado mucha importancia, pensando solo que ya veríamos si contenía DNA en algún momento más tarde, cuando hubiera tiempo. Quizá resultaría ser neandertal, lo que nos permitiría calibrar el alcance de la variación de mtDNA entre los neandertales más orientales.

Ahora, Johannes había encontrado tiempo para extraer DNA del hueso; y Qiaomei Fu, una joven y brillante estudiante de posgrado china, había hecho una librería y había utilizado un método que Adrian Griggs, el estudiante británico de posgrado de nuestro laboratorio, había desarrollado para pescar fragmentos de mtDNA de la librería. Encontraron una cantidad muy grande de mtDNA, en total, 30 443 fragmentos, que les permitieron reunir el genoma mitocondrial completo con un grado muy alto de exactitud. De hecho, cada posición del mtDNA se veía una media de 156 veces, inusualmente alta para un hueso

antiguo. Eran buenas noticias, pero no era por lo que Johannes me había pedido que me sentara. Había comparado la secuencia de mtDNA del hueso de Denisova con las seis secuencias completas de mtDNA neandertal que habíamos determinado con anterioridad, así como con las secuencias de mtDNA de los humanos actuales de todo el mundo. Mientras que los neandertales diferían de los humanos modernos en una media de 202 posiciones de nucleótidos, el individuo de Denisova difería en una media de 385 posiciones, ¡casi el doble! En un análisis de árbol, el linaje del mtDNA de Denisova se ramificaba bastante antes de que los linajes humano moderno y neandertal compartieran un ancestro común. Cuando Johannes calibró la tasa de sustituciones suponiendo que los humanos y los chimpancés se separaron hace 6 millones de años, resultaba que el mtDNA neandertal se separó del linaje humano hace aproximadamente medio millón de años —justo como ya habíamos demostrado— ¡y el mtDNA del hueso de Denisova se ramificaba hacía aproximadamente un millón de años! Apenas podía creer lo que Johannes me estaba contando. No era ni un humano moderno, ni un neandertal. Era otra cosa muy distinta.

La cabeza me daba vueltas. ¿Qué grupo humano extinto se pudo haber separado del linaje humano hace un millón de años? ¿El *Homo erectus*? Pero los fósiles más antiguos de *H. erectus* fuera de África se encontraron en Georgia y tenían unos 1,9 millones de años. Así que el *H. erectus* se suponía que había dejado África y por tanto se había separado del linaje que conducía a los humanos actuales hacía casi dos millones de años. ¿El *Homo heidelbergensis*? Pero se suponía que eran los ancestros directos de los neandertales, y por tanto era probable que se hubieran desviado del linaje humano moderno en la misma época que los neandertales. ¿Procedía este hueso de algo por completo desconocido? ¿Una nueva forma de humano extinta? Le pedí a Johannes que me dijera todo sobre ese hueso.

Desde luego el hueso era diminuto, del tamaño de dos granos de arroz puestos juntos. Procedía de la última falange del dedo más pequeño (ver ilustración 22.2[*]), la parte más exterior de un meñique, del que podría ser un individuo joven. Johannes había usado una fresa de dentista para sacar treinta miligramos de material del hueso, y de esta diminuta cantidad de polvo de hueso había extraído el DNA que Qiaomei había usado para hacer la librería. Por la cantidad de mtDNA que habían encontrado ella y Johannes, la conservación de DNA en el hueso debía de ser excepcionalmente buena. Estaría de vuelta en Leipzig en tres días y le dije que nos encontraríamos entonces y decidiríamos qué hacer.

Después de colgar, no podía concentrarme en escuchar las presentaciones sobre cómo diferían entre sí los genomas de diferentes razas de ratas. Era un día de invierno soleado y sin nieve de la zona de Nueva York. Pasé la mañana caminando a lo largo de la playa ventosa de debajo de Cold Spring Harbor y pensando en esa persona joven que había muerto lejos en una cueva de Siberia hacía muchos miles de años. Todo lo que quedaba de aquella vida era un diminuta mota de hueso, pero era bastante para decirnos que representaba algo desconocido para nosotros, un grupo de humanos que había dejado África antes que los ancestros de los neandertales, pero después del *Homo erectus*. ¿Podíamos saber qué grupo era este?

Cuando volví a Leipzig, me senté con Johannes y los demás para discutir nuestros próximos pasos. Los análisis del genoma neandertal estaban llegando a su fin, así que la gente tenía tiempo disponible para pensar en estos hallazgos sorprendentes. Lo primero que pensamos era si podría haber algún error en la secuencia de DNA que Johannes había reconstruido. Qiaomei y Johannes habían recuperado miles de fragmentos de mtDNA, y mucho menos de un 1% de ellos llevaban sustituciones que podrían estar contaminadas. Como el mtDNA se veía bastante di-

ferente del mtDNA de los humanos actuales, no podía ser contaminación de nadie de hoy. Ya antes en mi carrera me había preocupado a menudo por fragmentos de mtDNA que miles o millones de años en el pasado se habían integrado en los cromosomas nucleares de una célula. Estos fósiles de mtDNA podían a veces confundirse con una secuencia auténtica de mtDNA. Por fortuna, la forma circular del mtDNA nos permite separar fósiles de mtDNA nuclear de los reales. La secuencia de DNA que Johannes había reconstruido a partir de fragmentos solapados debía de proceder de una molécula circular. No veía cómo nuestros hallazgos podían estar mal. A pesar de todo, Johannes y Qiaomei harían una extracción separada, independiente, de algo del polvo que había quedado de la muestra de hueso y repetirían lo que habían hecho. Pero esto no pasaba de ser una formalidad. Estaba seguro de que conseguiría los mismos resultados.

Volví a la cuestión de qué podía haber sido esta persona insólita. Si había más huesos en la cueva, nos podría ayudar a entenderlo. Me dijeron que Anatoly Derevianko nos había dado solo una parte del hueso, por lo que todavía debía de haber un trozo más grande en Novosibirsk. Quizá también hubiera otros huesos que nos dieran indicios de qué aspecto tendría esta persona o que pudiéramos utilizar para extraer más DNA. Estaba claro que necesitábamos visitar Novosibirsk.

Envié de inmediato un correo electrónico a Anatoly y le dije que teníamos algunos resultados inesperados y emocionantes y que quería presentárselos en persona lo antes posible. Dije que también estaría muy interesado en analizar además la otra parte del hueso, y quizá datarlo. Anatoly contestó al día siguiente y pidió más detalles de los resultados. Se los resumí y organizamos una visita a Novosibirsk a mediados de enero de 2010, junto con Johannes, y también Bence Viola, un jovial arqueólogo de ascendencia húngara. Bence está especializado en paleontología de Asia central y Siberia, y habíamos trabajado juntos a menudo en

el pasado. Acababa de conseguir convencerle de que viniera a Leipzig desde Viena para trabajar con nosotros y con los paleontólogos de nuestro instituto. Una cuarta persona que se nos unió fue Victor Wiebe. Había hecho el doctorado en Novosibirsk en los setenta y conocía a Anatoly y varias personas más de allí de esa época, y llevaba trabajando conmigo doce años. En este viaje haría de intérprete, lo cual necesitábamos mucho. Yo había estudiado ruso treinta y cinco años antes, durante mi servicio militar en Suecia, pero para entonces solo me acordaba de preguntas ordinarias que se les plantearían a prisioneros de guerra. No eran adecuadas para discusiones científicas.

Después de una escala en Moscú y de un largo vuelo nocturno hasta Novosibirsk, aterrizamos a primera hora de la mañana del 17 de enero. Un reloj digital de la terminal del aeropuerto mostraba la hora: las 6.35. Luego cambió a la temperatura: -41 °C. Cuando llegó nuestro equipaje abrí mi bolsa y me puse toda la ropa que tenía. Fuera de la terminal el aire era muy seco y la nieve era como polvo arremolinándose en torno a nuestros pies mientras nos abríamos camino deprisa hacia el coche. Cuando inspiraba, las aletas de la nariz se me helaban hasta el tabique.

El viaje hasta Akademgorodok nos llevó una hora. Como sugiere el nombre, Akademgorodok es una ciudad que la Academia Soviética de Ciencias construyó solo con fines científicos en los años cincuenta. En su apogeo albergó a más de 65 000 científicos y sus familias. Después del colapso de la Unión Soviética, muchos científicos dejaron Akademgorodok, y la mayoría de sus institutos decayeron. Pero, para 2010, los gobiernos rusos y varias grandes empresas habían estado invirtiendo dinero en la ciudad durante casi diez años, y había una sensación de optimismo vacilante y cauteloso en torno a la ciudad.

Nos alojaron en el Hotel Golden Valley, que procedía de un típico edificio de apartamentos soviético de nueve plantas. Yo ya había estado en ese hotel otra vez; uno de mis más vivos recuer-

dos de aquella visita era la falta de agua caliente, que me obligaba cada mañana a caminar una buena media hora a través de los bosques de abedules para nadar en un embalse cercano llamado el Ob Sea. Sin embargo, aquello era en verano, y ahora estaba algo intranquilo de que el sistema de calefacción no funcionara. No tenía que haberme preocupado. Cuando Johannes y yo llegamos a nuestra habitación, no solo había agua caliente en el grifo, sino que los radiadores estaban tan calientes que la temperatura en la habitación era insoportablemente alta, unos 40 °C. No había válvula para bajar la calefacción, así que acabamos abriendo las ventanas y dejando que entrara el aire exterior, que era casi 80 °C más frío. Dejamos la ventana abierta durante toda la duración de nuestra estancia.

Llegamos un domingo, y nuestro encuentro con Anatoly era el día siguiente, así que después de una siesta los cuatro decidimos dar un paseo. Nos asombró encontrar una tiendecita de helados abierta. Como estaba seguro de que iba a ser la única vez en mi vida que me tomaría un helado cuando la temperatura exterior fuera de –35 °C, me acerqué al puesto. La mujer que me vendió el helado se dio cuenta de que no era de allí y me urgió a que me tomara el helado deprisa: una vez que alcanzara la temperatura ambiente estaría tan duro como una roca y sería imposible comérselo. Después de comerme deprisa el helado fuimos andando por el bosque escarchado hasta la playa en la que había nadado en las cálidas mañanas de verano dos años antes. Éramos los únicos allí. El cielo estaba despejado, pero el pálido sol no daba ni pizca de calor. Por fortuna no hacía viento. Incluso el aire más leve que se colara entre nuestra ropa tenía un efecto helador. De hecho, para entonces los dedos de mis pies estaban entumecidos y enseguida nos retiramos a las habitaciones sobrecalentadas de nuestro hotel.

Al día siguiente nos encontramos con Anatoly en la espaciosa oficina de la que disfrutaba como director del Instituto de Ar-

queología y Etnografía. También estaba presente Michael Shunkov, el arqueólogo que dirigía las excavaciones en la cueva de Denisova, así como algunos de sus asociados. Johannes presentó los descubrimientos suyos y de Qiaomei y todo el mundo se quedó de piedra. ¿Se trataba de una nueva forma de humano extinto, quizá alguna forma que solo existió en Siberia o solo en los montes Altai? De hecho había varias especies de plantas y animales endógenos del área de Altai, así que la idea era plausible. Durante un almuerzo de deliciosos fiambres rusos bañados con vodka, todo ello servido en el despacho de Anatoly, discutimos acaloradamente sobre lo que podíamos haber encontrado. Después de un rato, cuando el ambiente se animó y distendió, señalé que la respuesta última a nuestras preguntas se encontraría en el genoma nuclear. Si pudiéramos muestrear el trozo restante, más grande, del hueso del dedo, podríamos secuenciar el genoma nuclear y conseguir una imagen más completa de cómo estaba relacionado este individuo con las personas actuales y con los neandertales cuyos genomas acabábamos de secuenciar. Al principio no entendí la respuesta de Anatoly a esta petición, que atribuí a mi mal ruso y a mi estado ebrio. Pero aún estaba perplejo después de la traducción de Victor. Al parecer, Anatoly estaba explicando que ya no tenía el otro trozo de hueso porque se lo había dado a mi «amigo» hacía casi un año. Desconcertado, miré interrogativamente a Victor, Bence y Johannes. ¿Qué amigo mío? ¿Lo tenía alguno de ellos? Pero parecían tan aturdidos como yo. Entonces Anatoly aclaró. Se lo había dado a «mi amigo Eddy. Eddy Rubin, en Berkeley».

No tengo ni idea de qué cara puse o de lo que dije después de esto. Sabía que Eddy había estado intentando conseguir huesos para secuenciar el genoma neandertal antes que nosotros. Pero aquí nos estábamos enterando de que, durante casi un año, había tenido un trozo mucho más grande que nosotros de este hueso especial que contenía tanto DNA endógeno que sería posible se-

cuenciar el genoma nuclear en cuestión de pocas semanas, sin trucos técnicos o muchos cientos de sesiones de las máquinas de secuenciación. Y aún estábamos a semanas de enviar nuestro artículo del neandertal a *Science*, y no digamos de que se publicara. De repente, mi peor preocupación recurrente parecía a punto de hacerse realidad: antes de que pudiéramos publicar, habría un artículo de Berkeley presentando el genoma de otra forma extinta de humano, secuenciada con una cobertura incluso mayor que el genoma neandertal. ¿A quién le importarían entonces nuestros años de minucioso trabajo en técnicas de extracción, en enriquecer el DNA endógeno, en liberar el DNA neandertal del gran exceso de DNA bacteriano? Todos estos detalles serían importantes en la larga carrera por el uso de los cientos de huesos que no estaban tan milagrosamente bien conservados como este, pero en términos de conseguir el genoma de un pariente humano extinto, Eddy lo habría hecho más rápido y mejor, solo porque había tenido suerte.

Luché por recuperar la compostura y por decir algo que no traicionara mis sentimientos. Pero solo pude emitir unos murmullos sobre la colaboración científica. Dejamos enseguida la reunión con un plan para cenar con nuestros huéspedes más tarde en la Casa de los Científicos, el centro social de Akademgorodok. Mientras caminábamos de vuelta a la habitación del hotel, ya no sentía el frío. Johannes intentaba consolarme. Intentaba hacerme ver que debíamos seguir haciendo el mejor trabajo posible y olvidarnos de competir. Por supuesto, tenía razón. Pero era evidente que no podíamos desentendernos de este asunto. Ahora, más que nunca, teníamos que darnos prisa.

La cena fue animada y amistosa, como todas las cenas que había disfrutado con Anatoly. La comida era excelente: el salmón, los arenques y el caviar fueron seguidos de varios platos principales deliciosos. Abundaron los brindis con vodka a lo largo de toda la velada y, como es costumbre en Rusia, cada participante

tomó la palabra proponiendo un brindis por un tema apreciado por todos, como la colaboración, la paz, nuestros profesores, nuestros estudiantes, el amor, las mujeres, etc. Cuando empecé a viajar a la Unión Soviética odiaba esta costumbre, que me hacía sentir muy incómodo cuando tenía que murmurar entre dientes un discurso sobre un tema del que no disfrutaba hablando ante una gran cantidad de comensales. Pero con el tiempo me había acostumbrado a ello, e incluso había llegado a apreciar el hecho de que esto permitía a todos los participantes en la cena, incluso a aquellos por cuya posición social no se les permitía hablar, y no digamos dominar la conversación, reclamar la atención de todo el mundo durante un instante.

Sin duda, también había llegado a apreciar esta costumbre gracias al hecho de que, en el fondo, soy una persona muy sentimental, un rasgo que el alcohol a menudo ayuda a sacar a la superficie. Y estos brindis versan precisamente sobre los sentimientos. Primero brindé por nuestra fructífera colaboración y luego por la paz, señalando que había crecido en la Suecia capitalista, y me había visto condicionado a considerar como un escenario probable una enorme guerra en Europa y a Rusia como nuestro enemigo natural. Como Suecia era oficialmente neutral, el enemigo potencial al que me habían enseñado a enfrentarme durante mi servicio militar era oficial y eufemísticamente llamado «el superpoder», pero era revelador que la lengua que hablaba con los prisioneros políticos durante nuestros juegos de guerra era el ruso. Pero la guerra que todos planeaban no llegó nunca. Nunca tuvimos que enfrentarnos entre nosotros como enemigos. En cambio, estábamos sentados aquí como amigos, trabajando juntos y descubriendo cosas asombrosas juntos. Gracias al alcohol, me emocioné con mis propias palabras. Johannes, como uno de los más jóvenes de la cena, escogió adecuadamente brindar por sus profesores. Me di cuenta de lo borracho que yo estaba cuando me hizo llorar diciendo que tenía dos padres en la ciencia: yo,

que le había iniciado en la evolución molecular y el DNA antiguo, y Anatoly Derevianko, quien, durante dos viajes de estudio por los Altai y Uzbekistán, le había iniciado en la arqueología. De hecho, me emocioné tanto porque estas eran verdades que en general no habíamos compartido entre nosotros.

Después de la cena, volvimos caminando hasta nuestro hotel a lo largo de la calle principal de Akademgorodok. La noche era muy fría y oscura, y las estrellas muy brillantes debido al hecho de que el aire helado apenas podía mantener ninguna humedad. Pero no lo noté. La tensión anterior me había hecho engullir tragos de vodka más deprisa de lo que normalmente hacía. De hecho, tenía la sensación de que no había estado tan borracho desde la adolescencia. Pero mientras bajábamos tambaleantes la calle nevada, Bence me dijo algo que penetró al instante incluso en mi mente intoxicada. Al principio de la visita, Anatoly le había dado un diente que había sido encontrado nueve años antes en la cueva de Denisova. Era un molar (ver ilustración 22.3[*]), probablemente de un joven, pero era enorme. Bence dijo que nunca antes había visto un diente semejante, y que le parecía diferente tanto de los dientes neandertales como de los humanos modernos. De hecho, dijo, si no hubiera sabido dónde se había encontrado, hubiera pensado que procedía de algún ancestro humano mucho más antiguo, quizá un *Homo erectus* de África, o un *Homo habilis*, o quizá incluso *Australopithecus*. Era el diente más asombroso que había visto nunca. En nuestro estado ebrio, estábamos seguros de que tenía que proceder de la misma persona que el hueso del dedo, y convencidos de que esta criatura tenía que haber sido algo que no hubiéramos visto antes. En los Altai, había rumores desde hacía mucho tiempo sobre hombres de las nieves llamados Almas que vivían en las montañas. Según avanzábamos hacia el hotel, nos pusimos a gritar ¡que habíamos encontrado un Alma! Bromeamos que si pudiéramos conseguir una fecha de radiocarbono del diente, descubriríamos que solo

tenía unos años. Esto explicaría por qué contenía tanto DNA. Quizá estas criaturas del tipo del Yeti aún vivían en algún lugar de la frontera entre Rusia y Mongolia. Casi no me acuerdo de cómo encontré el hotel y cómo me metí en la cama aquella noche.

A mañana siguiente fue difícil levantarse para coger un taxi al aeropuerto, y ninguno de nosotros habló mucho hasta una hora o dos más tarde en nuestro vuelo a Moscú. Para entonces, me iba dando cuenta lentamente de la realidad sombría de nuestra situación, empañada por la tristeza y el sudor frío de una seria resaca. Quizá ya estaban escribiendo un artículo en Berkeley sobre el hueso de Denisova. Nosotros habíamos empezado a escribir un artículo sobre nuestros resultados de mtDNA de Denisova en Navidad, pero ahora era urgente que acabáramos ese artículo lo ante posible. ¿A dónde lo enviaríamos? Los editores de *Science* ya estaban esperando impacientes nuestro artículo sobre el genoma neandertal. Proponerles un artículo diferente sobre un tema diferente podría hacer que nos descartaran como incapaces de acabar un proyecto, y no digamos dos. Así que decidimos entrar en contacto con *Nature*. Durante la larga escala en el aeropuerto de Moscú, le escribí un correo a Henry Gee, el editor principal que se ocupa de la paleontología en *Nature*, y a Magdalena Skipper, la editora que se ocupa de la genómica. Les dije que teníamos un artículo casi acabado que describía «lo que interpretábamos como una nueva especie de hominino basándonos en una secuencia completa de DNA mitocondrial que se había separado del linaje humano hace casi el doble de tiempo que el mtDNA neandertal». Era muy consciente de que el proceso de publicación podía alargarse varios meses. Podía incluso acabar en rechazo, después de meses de vacilaciones con revisores y editores, después de lo cual necesitaríamos enviárselo a otra revista y sufrir otro proceso asimismo prolongado. No quería que esto ocurriera esta vez, así que les dije que teníamos competencia directa y que les estaría

agradecido si pudieran hacerse cargo del artículo de inmediato. Una hora y quince minutos más tarde, Henry Gee contestó: «¡Qué emocionante! Es muy difícil predecir, sobre todo el futuro. Sin embargo, cuando me lo mandes le daremos la máxima prioridad».

En cuanto estuvimos de vuelta en Leipzig, acabamos el manuscrito, que titulamos «El genoma completo del mtDNA de un hominino desconocido de Siberia meridional», y lo enviamos a *Nature*. Era un artículo único. Por primera vez en la historia, se describía una nueva forma de humanos extintos a partir solo de datos de secuencia de DNA, en ausencia total de restos esqueléticos. Dado que el mtDNA era tan distinto tanto del de los humanos modernos como del de los neandertales, estábamos seguros de haber encontrado una nueva forma de humano extinto. De hecho, estábamos tan convencidos de esta idea que, después de discutirlo, decidimos describirlo como una nueva especie, a la que llamamos *Homo altaiensis*.

Sin embargo, me sentía algo incómodo por sugerir una nueva especie y pronto tuve dudas. Para mí, la taxonomía, la clasificación de los organismos vivos en especies, géneros, órdenes, etc., es un ejercicio académico estéril, sobre todo cuando hablamos de formas humanas extintas. Cada vez que mis estudiantes me envían textos en los que usan la terminología usual de Linneo (Carl) en latín para grupos que son comúnmente conocidos —por ejemplo: «Para entender mejor el patrón de variación genética de *Pan troglodytes*, secuenciamos…»—, siempre tacho el latín y a veces incluso pregunto sarcástico a quién intentan impresionar diciendo «*Pan troglodytes*» en lugar de «chimpancés». Otra razón por la que no me gusta la taxonomía es que tiende a suscitar debates científicos que no tienen solución. Por ejemplo, si los investigadores se refieren a los neandertales como «*Homo neanderthalensis*», indican que los consideran una especie separada, distinta del «*Homo sapiens*». Esto siempre pone furiosos a los multirre-

gionalistas, que ven continuidad desde los neandertales a los europeos actuales. Si los investigadores dicen «*Homo sapiens neanderthalensis*», indican que los ven como una subespecie, al mismo nivel que «*Homo sapiens sapiens*». Esto siempre pone furiosos a los que defienden la hipótesis estricta «fuera-de-África». Prefiero evitar estas controversias, y aunque para entonces ya habíamos demostrado (aunque aún no publicado) que había habido mezcla entre neandertales y humanos modernos, sabía que las guerras taxonómicas sobre la clasificación de los neandertales continuarían, ya que no había ninguna definición de especie que describa perfectamente el caso. Muchos dirían que una especie es un grupo de organismos que pueden producir descendencia fértil entre sí y no pueden hacerlo con miembros de otros grupos. Desde esta perspectiva habíamos demostrado que los neandertales y los humanos modernos eran la misma especie. Pero este concepto tiene sus limitaciones. Por ejemplo, los osos polares y los osos pardos pueden (y en ocasiones lo hacen) producir descendencia fértil entre sí cuando se encuentran en estado salvaje. Pero los osos polares y los osos pardos tienen un aspecto y un comportamiento diferentes, y están adaptados a formas de vida y entornos diferentes. Parecería bastante arbitrario, si no directamente ridículo, considerarlos una única y misma especie. No sabíamos si el hecho de que los neandertales aportaron quizá del 2% al 4% de los genes a los humanos actuales quería decir que eran la misma o diferente especie. Así que resultaba irónico que, después de habernos abstenido siempre de usar el nombre latino para los neandertales en nuestros artículos, ahora estuviera yo mismo a punto de introducir una designación linneana de nueva especie.

A pesar de mis recelos hacia los debates taxonómicos infructuosos, sentía que tenía algunas razones para este abandono de mis principios. El mtDNA del individuo de Denisova era el doble de diferente de los mtDNA de los humanos modernos que lo que era el mtDNA de los neandertales. Eso probablemente los

acercaba más a los *H. heidelbergensis*, que sí tenían su propio nombre latino de especie. Pero también estaba en juego la vanidad. No hay mucha gente que llegue a dar nombre a una nueva especie de hominino, lo cual lo hacía muy tentador, incluso más porque era la primera vez que se haría tan solo basándose en datos de DNA. Sin embargo, el argumento decisivo surgió tanto de personas de nuestro grupo como de Henry Gee de *Nature*. Señaló que si no tomábamos la iniciativa y le dábamos un nombre de especie a este hominino, lo harían otros. Y esa persona podría aparecer con un nombre que no nos gustara. Así que después de deliberar con Anatoly y el equipo que había excavado el hueso del dedo, decidimos llamarlo *Homo altaiensis*.

Nature mantuvo su promesa de procesar nuestro artículo con rapidez: once días después de nuestro envío recibimos comentarios de cuatro revisores anónimos. Todos alababan los aspectos técnicos del artículo, pero estaban divididos sobre el tema de nombrar una nueva especie. Dos revisores expresaban sus inquietudes por que hubiéramos secuenciado de hecho un *Homo erectus* tardío. Les parecía que si el *H. erectus* había tenido contacto continuado con grupos de África, era posible que no mostraran una divergencia de mtDNA tan profunda como los que salieron por primera vez fuera de África hacía unos 2 millones de años. Yo dudaba de esto. Pero el cuarto revisor señalaba algo que nos salvaba de nosotros mismos. Él o ella decía que «una vez que un nombre está en la literatura taxonómica, ya no puede retirarse más tarde. Por lo que creo que no es prudente esa denominación provisional».

Mientras tanto, caímos en la cuenta de que las grandes cantidades de mtDNA que Johannes había podido capturar de las librerías de DNA de Denisova suponían que podríamos secuenciar una parte importante del genoma nuclear de este individuo. Esto establecería su relación tanto con los neandertales como con los humanos modernos de una manera definitiva, así como

su posible estatus como nueva especie. Volvimos a escribir el texto y eliminamos cualquier referencia a una nueva especie. En cambio, decíamos que «se necesitan secuencias de DNA nuclear para clarificar de forma definitiva la relación del individuo de Denisova con los humanos actuales y con los neandertales». Lo volvimos a enviar a *Nature*, donde apareció a principios de abril[2]. Como mostrarían los acontecimientos, teníamos razones para estar agradecidos por no haber dado nombre a una nueva especie.

CAPÍTULO 23

EL PARIENTE NEANDERTAL

En cuanto pudimos, iniciamos la secuenciación del DNA nuclear a partir de las librerías que Johannes había preparado con el hueso. Los resultados fueron asombrosos. Cuando Udo los mapeó en relación con el genoma humano, encontró que encajaban casi un 70% de todos los fragmentos de DNA. Pero aun así la contaminación con DNA humano moderno, juzgada a partir de los resultados del mtDNA, era muy baja. Esto suponía que más de dos tercios del DNA del hueso ¡procedían del individuo muerto! En comparación, esto solo pasaba en el 4% del DNA de nuestros mejores restos; lo más frecuente era que la proporción estuviera muy por debajo del 1%. Este hueso estaba tan bien conservado como el mamut que Hendrik Poinar había secuenciado, y el esquimal que Eske Willerslev había secuenciado en Copenhague. Pero ambos especímenes habían permanecido congelados en el permafrost desde poco después de morir. Esto explicaba por qué la mayor parte del DNA de estos especímenes no era bacteriano, pero no podía explicar por qué un individuo de la cueva de Denisova había dado tanto DNA. Cualquiera que fuera la razón, desde luego facilitaba mucho el análisis del genoma. De hecho, nuestro problema mayor era más cómo eliminar los fragmentos de DNA microbiano de la librería que cómo captar los pocos fragmentos de DNA endógenos, como habíamos hecho con los neandertales. Ahora la pregunta principal era buena: ¿cuánto podíamos conseguir del genoma nuclear? Como siempre, no queríamos usar la superficie exterior del hueso. Primero, parecía irresponsable agotarlo todo, ya que no sabíamos cuánto del trozo más grande habían agotado Eddy y su grupo en Berkeley. Segundo, si alguna parte del hueso estaba contaminada por las personas que lo habían manejado, sería la superficie. Así que Johannes utilizó las partes internas del hueso para sacar dos

nuevos extractos. A partir de sesiones de prueba de las librerías preparadas con estos extractos de DNA, Martin Kircher calculó que podríamos conseguir incluso más cobertura del genoma de la que habíamos tenido para los neandertales.

Cuando Johannes hizo librerías a partir de los extractos, aplicó una de las innovaciones de Adrian Briggs para tratar el daño químico que cambiaba los nucleótidos C del DNA por nucleótidos U. Adrian había mostrado que la mayoría de estos nucleótidos U se hallaban cerca de los extremos de las antiguas moléculas de DNA, y cómo quitar los extremos dañados. Al hacerlo, perdió una media de uno o dos nucleótidos en los extremos de casi la mitad de las moléculas antiguas, pero también se deshizo de la gran mayoría de los errores de las secuencias de DNA. Como ya no era necesario tener en cuenta frecuentes errores de C en T, el mapeado de los fragmentos con respecto al genoma humano se hizo más fácil. Johannes hizo dos grandes librerías con este método. No solo un 70% de los fragmentos de DNA de estas librerías eran del individuo de Denisova, sino que además esos fragmentos de DNA ahora contenían muchos menos errores que los fragmentos de DNA neandertal. Esto era un verdadero progreso. Aun así estaba nervioso, sabiendo que el grupo de Eddy podía estar también trabajando en el mismo proyecto, o incluso puliendo un bonito manuscrito que presentara el genoma. Así que intenté conseguir que todo fuera lo más rápido posible, y pedí a los grupos de secuenciación que dejaran de lado otros proyectos y secuenciaran estas librerías tan deprisa como pudieran.

También tenía mucha curiosidad por el diente de aspecto extraño que Anatoly nos había dado. Solo el trabajo con DNA nos diría si procedía del mismo tipo de persona que el dedo. Johannes, tan cuidadoso como cualquier dentista tratando a un paciente vivo, fresó un pequeño orificio en el diente e hizo extractos del polvo que recuperó y, a su vez, librerías del DNA de los extractos. De las librerías captó entonces fragmentos de mtDNA.

Además, secuenciamos de inmediato fragmentos al azar de DNA de las librerías para ver cuánto DNA era endógeno del individuo.

Hubo noticias buenas y malas. La noticia buena fue que pudo reconstruir todo el genoma de mtDNA. Había dos diferencias entre este y el hueso del dedo, que querían decir que era de una persona diferente y que ambos eran del mismo tipo de humanos. La noticia mala era que la fracción de DNA endógeno del diente era solo de un 0,2%. Ahora estábamos incluso más perplejos: por qué el hueso del dedo contenía tanto DNA endógeno. Especulé con que el dedo pudo desecarse rápidamente después de la muerte, lo cual pudo limitar la degradación del DNA por enzimas de las células muertas y detener el crecimiento de las bacterias. Bromeé sobre que quizá esta persona se había muerto con el meñique alzado en el aire de manera que se momificó antes de que las bacterias tuvieran muchas posibilidades de multiplicarse.

Ahora que habíamos demostrado que el diente procedía del mismo tipo de humano que el dedo, Bence se dedicó al análisis de su morfología con renovada energía. Aunque no soy un experto en dientes, incluso a mí me pareció asombrosamente grande. Era al menos un 50% más grande que mis molares. Bence señaló que además de ser muy grande era diferente de los molares neandertales con respecto tanto a la ausencia como a las presencia de determinados rasgos en su corona. También sus raíces eran excepcionales. A diferencia de las raíces de molar de neandertal, que tienden a estar poco espaciadas o incluso fusionadas, este tenía raíces muy divergentes. Bence concluyó que la morfología dental sugería que la población de Denisova era distinta tanto de los neandertales como de los humanos modernos. De hecho, como el diente de Denisova carecía de los rasgos neandertales que evolucionaron hace unos 300 000 años, supuso que los ancestros de los individuos de Denisova se habían separado de los neandertales antes de esto. Esto concordaba con lo que el mtDNA nos

había dicho. Pero yo seguía siendo cauto, algunos podrían decir que demasiado escéptico, sobre la interpretación de los rasgos morfológicos. Quizá la población Denisova había vuelto a tener dientes de aspecto antiguo después de separarse o de los humanos modernos o de los neandertales. Solo el genoma nuclear nos contaría la historia completa.

Nuestras máquinas de secuenciación empezaron a producir secuencias de DNA nuclear de Denisova casi en la misma época en la que estábamos analizando los comentarios de los revisores y acabando el artículo del neandertal. Así que no teníamos mucho tiempo para analizar las secuencias de Denisova de inmediato, pero imaginé que podríamos analizarlas con rapidez una vez que nos pusiéramos a ello. Durante los últimos cuatro años habíamos desarrollado programas de ordenador para analizar el genoma neandertal que ahora se podrían aplicar directamente al genoma del individuo de Denisova. Aun así, seguía con temor de que Eddy estuviera muy por delante de nosotros, por lo que decidí reducir el Consorcio para el Análisis del Genoma Neandertal a un núcleo básico, que esperaba fuera más rápido, y les pedí que dedicaran toda su atención al genoma de Denisova. Sobre todo, necesitábamos a David Reich, Nick Patterson y Monty Slatkin y su equipo (ver ilustración 23.1[*]). En un principio nos llamamos el grupo «Hombre X» porque no sabíamos qué era el individuo de Denisova. Para entonces Bence nos había dicho que el dedo era de un individuo joven, quizá de una edad de tres a cinco años, y habíamos secuenciado el mtDNA heredado de la madre, por lo que parecía poco apropiado que usáramos una designación que hiciera que todo el mundo pensara en una figura cómica de macho. También pensé en «Muchacha X», pero me parecía que sonaba demasiado a personaje manga japonés. Al final me decidí por «Mujer X», y el nombre se quedó. De inmediato el Consorcio de la Mujer X empezó a celebrar conferencias telefónicas semanales.

Udo mapeó los fragmentos de DNA con respecto a los genomas humano y del chimpancé. Fue relativamente fácil, teniendo en cuenta que habíamos usado el método de Adrian para limpiarlo de la mayoría de los errores, pero Udo me advirtió de que el mapeo era provisional. A pesar de ello, distribuimos los datos al Consorcio de la Mujer X. Poco después de que hubiéramos enviado la versión final del artículo del mtDNA revisado a *Nature*, Nick Patterson me envió un informe sobre su análisis preliminar de los mapeos provisionales de Udo. Cuando lo leí, agradecí al revisor que nos había convencido de no dar nombre a una especie nueva. Nick había descubierto dos cosas.

Primero, descubrió que el genoma nuclear del hueso del dedo de Denisova estaba más estrechamente relacionado con el genoma neandertal que con los genomas de las personas vivas actuales. De hecho, parecía ser solo un poco más diferente del genoma neandertal que las diferencias más profundas que se pueden encontrar entre los humanos vivos de hoy —por ejemplo, entre el individuo de Papúa Nueva Guinea que habíamos secuenciado y el individuo san africano—. Esta era una idea muy distinta de la que nos habíamos hecho con solo los resultados del mtDNA, y mi sospecha inmediata fue que el responsable de introducir el mtDNA en los individuos de Denisova era un flujo de genes a partir de algún otro hominino más antiguo de Asia. Después de todo, acabábamos de demostrar que los humanos modernos se habían cruzado con los neandertales, así que el flujo de genes parecía una conjetura razonable. Pero había algo en lo que teníamos que pensar con cuidado.

Lo segundo que Nick había descubierto era aún más inesperado. De los cinco humanos que habíamos secuenciado para el análisis del neandertal, el individuo de Denisova compartía más alelos SNP derivados con el individuo papú que con el individuo chino, europeo o los dos africanos. Una explicación posible era que algunos parientes del individuo de Denisova se habían mez-

clado con los ancestros del individuo papú, aunque dada la distancia de Siberia a Papúa Nueva Guinea sentí que podríamos estar precipitando conclusiones. Podía haber errores sistemáticos en lo que hacíamos, y Udo volvió a advertirme de que sus mapeos de los fragmentos de DNA con el genoma eran provisionales. Quizá había algo en los complejos análisis de ordenador que creaba una semejanza extra entre los genomas de Denisova y neandertal y entre los genomas de Denisova y papúa. En ese caso, ambos descubrimientos de Nick podían estar equivocados.

Una semana más tarde, Ed acabó su propio y minucioso análisis de los nuevos datos. Encontró que había muy pocos fragmentos cromosómicos Y en el DNA que habíamos secuenciado, así que la Mujer X era realmente una mujer, o más bien, dado el tamaño diminuto del hueso, una niña. La carencia general de fragmentos cromosómicos Y también indicaba que la contaminación por DNA nuclear masculino era baja. Cuando buscó divergencias de las secuencias de DNA de Denisova con los genomas humano y neandertal, él, como Nick, encontró que el genoma de Denisova compartía más alelos SNP derivados con el genoma neandertal que con los humanos modernos. Lo cual sugería que el ancestro común de la niña de Denisova y los neandertales primero se separaron del linaje que incluye a los humanos modernos, y solo después el ancestro de la niña de Denisova y los neandertales tomaron caminos diferentes. En otras palabras, la niña de Denisova y los neandertales estaban más estrechamente relacionados entre sí de lo que lo estaban con los humanos modernos. Se plantearon varias preguntas mientras discutíamos estos datos durante nuestras reuniones de los viernes en Leipzig y durante largas conferencias telefónicas con Nick, David, Monty y los demás. ¿Cómo podía ser tan diferente el mtDNA de Denisova cuando el genoma nuclear de Denisova estaba más cerca del de los neandertales que del de los humanos modernos? ¿Podía haber tenido quizá la niña de Denisova ancestros que incluyeran

a los neandertales y a alguna forma humana más arcaica, quizá el *Homo erectus*? ¿O podía ella ser una mezcla de humanos modernos y un hominino arcaico de este tipo? Examinamos todas estas posibilidades y ninguna parecía encajar.

Le llevó a Udo unos pocos meses refinar el mapeo de todos los fragmentos con cada uno de los genomas de comparación. Los mapeos finales no cambiaron el cuadro, y acabé convencido de que la niña de Denisova era miembro de una población que compartía un origen común con los neandertales, pero que había vivido separada de los neandertales durante al menos tanto tiempo como, digamos, los finlandeses de hoy han estado separados de los san de Sudáfrica. Las secuencias de DNA de Denisova tendían a estar un poco más cerca de las de los eurasiáticos que de las de los africanos, pero menos de lo que lo estaban las secuencias de DNA neandertal. Una ascendencia común de la niña de Denisova y los neandertales explicaría esto mejor, ya que cuando los neandertales se mezclaron con los humanos modernos, los ancestros euroasiáticos heredaron secuencias de DNA que eran de alguna manera semejantes a las secuencias de DNA de Denisova solo porque los neandertales estaba relacionados con la niña de Denisova.

Así que estaba claro que la población a la que pertenecía la niña de Denisova se había separado de los neandertales antes de que estos se encontraran con los humanos modernos. ¿Cómo llamaríamos a esta población? Desde luego no queríamos darle un nombre latino que nos obligara a etiquetarla como una subespecie o una especie. Sería ridículo, ya que tan solo eran diferentes de los neandertales como lo soy yo de un san. Pero necesitábamos llamarlos de alguna manera. Necesitábamos lo que los taxonomistas llamarían una denominación trivial, como «finlandés», «san», «alemán», o «chino». «Neandertal» era uno de esos nombres triviales, puesto por el valle de Neander en Alemania, ya que *Thal* era una antigua manera de escribir la palabra alemana «va-

lle». Siguiendo este ejemplo, propuse que los llamáramos «denisovanos». Anatoly estuvo de acuerdo, así que sin más ceremonias anunciamos nuestra decisión en una conferencia telefónica y, a partir de entonces, nos referimos a la población que incluía a la Mujer X y al individuo con un molar inusualmente grande con el nombre de los denisovanos.

Quedaba una cuestión emocionante: si el hallazgo de Nick, consistente en que la niña de Denisova compartía más variantes de secuencia derivadas (SNP) con el individuo papú que con los otros cuatro individuos que habíamos secuenciado, era un descubrimiento real o se debía a algún error en el programa de ordenador o una peculiaridad en los datos. A lo largo de las semanas siguientes, discutimos diferentes problemas técnicos que podrían provocar que los datos aparecieran así. Pero las cosas seguían ambiguas. Quizá podía haber algo especial en las secuencias de DNA papú que las hacía aparecer ligeramente más semejantes a las secuencias de DNA denisovano. A mí me parecía sospechoso que no hubiéramos visto ni rastro de esta supuesta mezcla en China, puesto que ello querría decir que los ancestros papúes podrían haberse encontrado con los denisovanos, que sabemos que existieron en Siberia, sin encontrarse con los ancestros de los chinos. Por supuesto, quizá los denisovanos vivieron en otros lugares además de Siberia. Decidimos que la mejor manera de enfrentarse a esto era secuenciando más personas actuales. Esto ralentizaba nuestro proceso hacia la publicación, pero no queríamos hacer el ridículo afirmando algo que luego resultara deberse a algún error técnico de nuestra parte. Así que decidimos secuenciar a siete personas más de todo el mundo. Escogimos a un mbuti africano y un europeo de Cerdeña, dos personas de las que no se esperaría que tuvieran nada que ver con los denisovanos. También incluimos una persona de Mongolia, Asia central, como una persona que vivía no demasiado lejos de la zona de los Altai; un camboyano como alguien del Asia continental no de-

masiado lejos de Papúa; y un karitiano de Sudamérica (Brasil) como representante de los americanos nativos, cuyos ancestros habían venido desde Asia y quizá pudieron encontrarse con los denisovanos en el pasado. Por último decidimos secuenciar dos personas de Melanesia, y escogimos a un segundo papú y una persona de la isla de Bougainville.

Con estas secuencias en mano, Nick y los demás volvieron a hacer sus análisis. Los resultados confirmaron que el genoma denisovano tenía una relación especial con las personas de Papúa y Bougainville. Por el contrario, no se compartían en absoluto más SNP derivados con las personas de Camboya, Mongolia o Sudamérica.

Martin también encontró otra cosa interesante. Detectó un indicio de que el genoma denisovano llevaba más variantes de secuencia ancestral (simiesca) que el genoma neandertal. Esto podría indicar flujo de genes a los ancestros denisovanos de algún humano arcaico que también podría haber provocado el DNA divergido. Pero tanto Nick como Monty aún estaban preocupados de que pudiéramos estar pasando por alto alguna desviación. ¿Sería arriesgado hacer análisis detallados con los genomas neandertal y denisovano juntos? Como ambos eran genomas antiguos, podrían compartir algunos errores que fueran consecuencia de haber estado depositados en la tierra durante miles de años. Incluso también discutimos sobre si el flujo de genes en los papúes podría después de todo deberse a algún problema técnico recóndito.

Para finales de mayo yo me sentía cada vez más frustrado. Después de una larga conferencia telefónica con lo que me parecían discusiones demasiado complicadas sobre posibles problemas técnicos, escribí un correo al consorcio en un arranque de mal humor diciendo que me parecía que nuestra principal contribución a la comunidad científica era la secuencia del genoma denisovano en sí, así como el diente denisovano con su morfolo-

gía peculiar. Hasta entonces, el mundo conocía solo la secuencia de mtDNA denisovano, y por tanto creía que los humanos modernos y los neandertales eran parientes muy próximos entre sí, y que el individuo de Denisova era un pariente más lejano. A partir del genoma nuclear, sabíamos ahora que la situación real era que los denisovanos y los neandertales estaban más cerca entre sí, y que los humanos modernos eran sus parientes más lejanos. Necesitábamos decirle esto al mundo tan pronto como fuera posible y dejar que otros investigadores tuvieran acceso al genoma que habíamos secuenciado. Si no estábamos seguros de si había habido mezcla o no con los papúes, no necesitábamos tratar ese tema en el artículo. Se podría abordar en un artículo posterior, cuando tuviéramos tiempo de explorarlo más a fondo.

Esto fue una sugerencia deliberadamente provocadora, y mucha gente inteligente del consorcio se opuso a ella. Adrian escribió un correo diciendo: «Es probable que la publicación sin la historia papú nos arriesgue a lo siguiente: alguien hará su propio análisis, encontrará la historia de la mezcla papú, y la publicará rápidamente. Por qué no lo hemos mencionado nosotros mismos puede ser interpretado entonces como a) incompetencia, b) precipitación, c) corrección política. ¿No es eso un problema?». Nick estuvo de acuerdo, y añadió: «Tenemos que lidiar con la cuestión papú o pareceremos locos o cobardes».

Así que continuamos luchando para imaginarnos qué problemas técnicos podían haber provocado este resultado inesperado. Lo que acabó cambiando el rumbo fue que Nick analizó la relación del genoma denisovano con otro conjunto de datos públicamente disponible. El Panel de Diversidad Humana, disponible desde un centro en París, es una colección de líneas de células y DNA de 938 humanos de 53 poblaciones de todo el mundo. Cada muestra ha sido analizada con una tecnología de «patrón oro» que muestra con gran exactitud qué nucleótido está presente en 642 690 sitios variables del genoma. Nick examinó la frecuencia

con la que los genomas neandertal y denisovano compartían SNP derivados en lugares de los que teníamos buenos datos de ambos genomas antiguos. Encontró que diecisiete individuos de Papúa Nueva Guinea y diez individuos de Bougainville destacaban entre otros individuos de fuera de África en que estaban más cerca del genoma de Denisova. Esto coincidía con lo que habíamos encontrado cuando analizamos los genomas que habíamos secuenciado. Ahora, todos estábamos convencidos de que algo especial había ocurrido entre los denisovanos y los ancestros de los papúes.

Utilizando los datos de los genomas denisovano y neandertal, David y Nick calcularon que un 2,5% de los genomas de pueblos de fuera de África procedía de los neandertales, y que más tarde, el flujo de genes había aportado un 4,8% del DNA denisovano a los papúes. Como los papúes llevaban también en su genoma el componente neandertal, esto suponía que casi un 7% del genoma de los papúes procedía de formas anteriores de humanos. Esto significaba un hallazgo asombroso. Habíamos estudiado dos genomas de formas humanas extintas. En ambos casos habíamos encontrado algún flujo de genes en humanos modernos. Así, cuando los humanos modernos se expandieron por el mundo, los niveles bajos de cruce con humanos anteriores parecían haber sido más la regla que la excepción. Esto quería decir que ni los neandertales ni los denisovanos se habían extinguido del todo. Un poco de cada uno de ellos vive en las personas actuales. También quería decir que los denisovanos debieron de expandirse mucho en el pasado, aunque es curioso que no parezcan haberse mezclado con humanos modernos en Mongolia, China, Camboya o cualquier otro lugar del Asia continental. Una explicación plausible es que habíamos encontrado los rastros de mezcla entre los primeros humanos modernos que habían emigrado fuera de África, trasladándose a lo largo de la costa meridional de Asia, antes de que el resto de Asia se poblara de humanos modernos.

Muchos paleontólogos y antropólogos han especulado sobre esta migración costera temprana de humanos modernos desde Oriente Medio a India meridional, las islas Andaman, Melanesia y Australia. Si estos pueblos se encontraron y mezclaron con los denisovanos, quizá en lo que es hoy Indonesia, entonces sus descendientes en Papúa Nueva Guinea y Bougainville, y probablemente también los aborígenes australianos, llevarían todos DNA denisovano. Quizá no vimos evidencias de mezcla con los denisovanos en otros lugares de Asia porque otros grupos modernos humanos que colonizaron más tarde el Asia continental siguieron rutas más interiores y por tanto nunca se mezclaron con los denisovanos. O quizá ni siquiera se encontraron porque los denisovanos ya se habían extinguido para cuando llegaron.

Más tarde, después de que apareciera nuestro artículo que describía el genoma denisovano, Mark Stoneking de nuestro departamento junto con David llevaron a cabo un estudio genético mucho más detallado de las poblaciones del sureste asiático y encontraron mezcla con denisovanos en Melanesia, Polinesia, y Australia, y en algunas poblaciones de Filipinas, pero no en las islas Andaman, y en ningún sitio más de la zona. Así, parece plausible la idea de que los primitivos emigrantes modernos desde África que vinieron a lo largo de una ruta meridional se encontraron con denisovanos y se mezclaron con ellos en algún lugar del Asia sudoriental continental.

Monty Slatkin usó todas las secuencias de DNA que habíamos generado para comprobar diversos modelos de población. Como yo esperaba, encontró que el modelo más sencillo que explicaba todos los datos era la mezcla entre neandertales y humanos modernos, seguido de la mezcla posterior entre denisovanos y ancestros melanesios. Pero aún necesitábamos explicar el muy extraño mtDNA denisovano. Había dos posibilidades. Una era que el linaje del mtDNA fue introducido en los ancestros denisovanos a través de la mezcla con otro grupo de homininos más ar-

caico. Esta era la idea que yo personalmente apoyaba. La otra era que se debía a un proceso llamado «clasificación incompleta de linaje». Esto solo quiere decir que la población que era el ancestro común de denisovanos y neandertales así como de los humanos modernos llevaba versiones anteriores de los tres mtDNA. Entonces, por azar, una variante de mtDNA que lleva muchas diferencias con respecto a las otras dos se convirtió en la que sobrevivió en las zonas denisovanas, mientras que las otras dos, que eran mucho más semejantes entre sí, fueron las que sobrevivieron en los neandertales y los humanos modernos, respectivamente. Es probable que esto hubiera ocurrido si la población ancestral de denisovanos, neandertales y humanos modernos fuera lo bastante grande como para que pudieran haber coexistido en ella muchos linajes de mtDNA. Los modelos de población de Monty mostraban que los datos podían explicarse o bien por una pequeña cantidad de mezcla de otro grupo humano desconocido o por este escenario de «clasificación incompleta de linaje». Aunque esto suponía que no podíamos favorecer una explicación sobre la otra, no obstante la mezcla me parecía una explicación más plausible. Después de todo, ya habíamos detectado dos casos de mezcla entre grupos arcaicos y humanos modernos, así que me había vuelto mucho más abierto a la posibilidad de que la mezcla fuera un rasgo común durante la evolución humana. Más aún, si los denisovanos estaban deseosos de tener sexo con los humanos modernos, parecía plausible que tuvieran sexo también con otros grupos arcaicos. Había llegado al convencimiento de que aunque el escenario de la propagación humana moderna es aquel en el que la muchedumbre de reemplazamiento ha empujado a otros grupos a la extinción, este no fue un reemplazamiento completo. Más bien, parece que algo de DNA se filtró en los grupos que seguían viviendo, tanto que empecé a usar un término que había tomado de algún sitio para describir este proceso: «reemplazamiento permeable». Quizá, pensé, la propaga-

ción de los denisovanos también había sido un asunto «permeable».

En julio, empezamos a escribir el artículo. Como un 70% del DNA del hueso denisovano era endógeno, la secuenciación del genoma denisovano fue una hazaña mucho menor de lo que había sido la secuenciación del genoma neandertal, pero eso suponía que habíamos podido producir una secuencia de genoma de mejor calidad, con una cobertura ligeramente superior (1,9 veces en lugar de 1,3 veces) para la muestra denisovana. Pero lo que es más importante es que la eliminación de las C deaminadas había reducido el número de errores de manera que eran cinco veces menos frecuentes que en el genoma neandertal. Enviamos el artículo a *Nature* a mediados de agosto. Me pareció que era un artículo asombroso. A partir de un hueso con un tamaño de más o menos un cuarto de terrón de azúcar, habíamos determinado una secuencia de genoma y la habíamos usado para demostrar que procedía de un desconocido grupo humano previo. Eso mostraba que la biología molecular podía aportar conocimientos nuevos e inesperados a la paleontología.

Nature envió nuestro artículo de nuevo a cuatro revisores anónimos. Los comentarios que recibimos diferían en calidad, desde el celoso beligerante al crítico profundo. Como había ocurrido con nuestro anterior artículo de mtDNA, los comentarios de uno de los revisores acababa mejorando sustancialmente nuestro artículo. Él o ella señalaba problemas potenciales con los análisis en los que habíamos usado los genomas denisovano y neandertal juntos para sugerir que el flujo de genes arcaico quizá hubiera aportado el mtDNA a los denisovanos. Me pareció que habíamos tratado estos problemas de manera adecuada, pero el revisor nos hacía coger el camino más seguro y evitar este tipo de análisis. Su revisión también nos hizo trabajar más para mostrar que las señales de flujo de genes en los melanesios podían no deberse a las diferencias de conservación del DNA, la tecnología de

secuenciación u otras diferencias en cómo se recogían los datos. Cuando volvimos a enviar el artículo después de tener en cuenta los comentarios, este revisor nos reconoció agradecido nuestros esfuerzos, diciendo: «A menudo, cuando uno plantea dudas en lo que se refiere a la metodología analítica subyacente utilizada para llegar a una conclusión… los autores disculpan estas dudas… Aquí los autores han hecho lo contrario: se han tomado muy en serio mis comentarios, han investigado los problemas que yo planteaba, y han emprendido una revisión sustancial de su trabajo para abordar mis dudas». Me sentí como un niño de escuela al que el profesor elogia. El revisor incluso se identificaba: era Carlos Bustamante, un genetista poblacional de Stanford a quien yo siempre había respetado.

A finales de noviembre de 2010, *Nature* aceptaba nuestro artículo para su publicación. El editor sugería que retrasáramos esta publicación hasta mediados de enero para conseguir más cobertura de la prensa y atención de la que sería posible durante las vacaciones de Navidad. Discutimos esto en el consorcio. Algunos estaban de acuerdo con el editor. A mí me parecía que si habíamos trabajado con tanta prisa como habíamos podido debido a la potencial competencia, no debíamos retrasar el último paso. Contra lo que era quizá la opinión mayoritaria forcé la publicación lo antes posible y el artículo acabó apareciendo el 23 de diciembre[1]. Estoy seguro de que esto provocó que obtuviera una atención menor de lo que hubiera sido de otra manera, pero me sentí bien por el hecho de que saliera el mismo año que el genoma neandertal.

Cuando Linda, Rune y yo subimos en el coche hasta nuestra casita en la nevada Suecia aquellas navidades, sentía que había sido un año verdaderamente excepcional. Habíamos logrado incluso más de lo que yo había soñado. Pero incluso aunque habíamos secuenciado el genoma neandertal y abierto la puerta a los genomas de otros grupos humanos extintos, quedaban muchos

misterios. Un gran misterio era cuándo habían vivido los denisovanos. Tanto el fragmento de hueso de dedo como el diente eran demasiado pequeños para permitirnos obtener datos de radiocarbono. En su lugar habíamos datado siete fragmentos de hueso encontrados en el mismo estrato de la cueva de Denisova, la mayoría con marcas de cortes u otras modificaciones humanas. Resultó que cuatro de los siete huesos tenían más de 50 000 años, mientras que tres tenían entre 16 000 y 30 000 años. Así que parecía que había habido humanos en la cueva antes de hace 50 000 años y de nuevo más tarde después de hace 30 000 años. Me inclinaba a pensar que las personas más antiguas eran los denisovanos y los más recientes, humanos modernos, pero no podíamos estar seguros. El profesor Shunkov y Anatoly habían encontrado herramientas de piedra asombrosamente sofisticadas y una pulsera de piedra pulida en lo que parecía ser el mismo estrato que el hueso del dedo. ¿Los habían podido hacer los denisovanos? Era una idea estrambótica, pero los arqueólogos pensaban que era posible.

Otro gran misterio era hasta dónde se habían extendido los denisovanos. Sabíamos que estuvieron en el sur de Siberia, pero el hecho de que se hubieran encontrado y hubieran concebido hijos con los ancestros de los melanesios sugería que habían estado mucho más extendidos en el pasado. Quizá habían recorrido todo el sureste de Asia, desde las regiones templadas o incluso subárticas hasta los trópicos. Pensé que necesitábamos buscar DNA denisovano en fósiles de China. También sería muy emocionante que Anatoly y su equipo encontraran más restos completos de denisovanos en los montes Altai. Si estos huesos tuvieran rasgos que separaran a los denisovanos de otros grupos de homininos, estos rasgos quizá nos permitieran identificar otros fósiles en otros lugares de Asia como denisovanos.

Desde entonces, tanto mi grupo como otros hemos seguido trabajando en estos misterios. Otros grupos han empezado a usar

el DNA antiguo para estudiar epidemias humanas pasadas y civilizaciones prehistóricas. Pero aquel diciembre sentí una satisfacción rara en mi carrera científica. Lo que se inició como una afición secreta cuando era estudiante de grado en mi Suecia natal hace más de treinta años se había convertido en un proyecto que parecía ciencia ficción cuando lo anunciamos hace un poco más de cuatro años. Ahora, habíamos llevado este proyecto a una maravillosa conclusión. Con mi familia en nuestra acogedora chocita sueca, estuve más relajado aquellas vacaciones de Navidad de lo que lo había estado desde hacía mucho tiempo.

EPÍLOGO

Tres años más tarde, mientras escribo esto, aún no sabemos qué pasó con la otra parte del hueso del dedo que Anatoly envió a Berkeley. Quizá algún día pueda usarse para la datación, para que sepamos cuándo vivió la niña de Denisova.

Anatoly y su equipo han continuado desenterrando huesos asombrosos en la cueva de Denisova. Han encontrado otro enorme molar que contiene DNA denisovano. También han encontrado un hueso de dedo del pie que resultó proceder de un neandertal.

David Reich y su posdoctorando Sriram Sankararaman han utilizado modelos genéticos para fechar la mezcla entre neandertales y humanos modernos en algún momento entre hace 40 000 y 90 000 años[1]. Esto muestra que ha sido el cruce real entre neandertales y humanos modernos lo que ha provocado la semejanza extra entre el genoma neandertal y los genomas de las personas de Europa y Asia, y no el escenario mucho más complicado de una antigua subestructura en África que también tuvimos en consideración en 2010.

Matthias Meyer, una especie de mago técnico de nuestro laboratorio, ha desarrollado nuevos métodos increíblemente sensibles para extraer DNA y hacer librerías. Esto nos ha permitido usar los diminutos fragmentos que quedaron del hueso del dedo de Denisova para secuenciar su genoma hasta una cobertura total de 30 veces[2]. Hace poco hemos continuado con la secuenciación del genoma neandertal del hueso del dedo del pie encontrado en la cueva de Denisova hasta una cobertura de 50 veces. Estos genomas antiguos tienen ahora una exactitud mayor que la mayoría de los genomas determinados de personas vivas en la actualidad.

Cuando comparamos el genoma neandertal con el genoma de la niña de Denisova, vemos que ella llevaba en su genoma un

componente de un hominino que se separó del linaje humano antes que los neandertales y los denisovanos. También vemos que los denisovanos se mezclaron con los neandertales, y que aportaron pequeñas cantidades de DNA no solo a los pueblos de Melanesia, sino también a pueblos que viven hoy en el Asia continental. Estas eran señales sutiles de mezclas en el pasado que no podíamos ver en 2010, cuando trabajábamos con genomas de calidad inferior. El cuadro que surge es que había muchas mezclas entre diversos tipos de humanos en el Pleistoceno tardío, pero la mayoría de pequeñas proporciones.

Estos dos genomas arcaicos de alta calidad, junto con los nuevos datos del Proyecto 1000 Genomas, nos permiten ahora crear un catálogo casi completo de posiciones en el genoma en las que todas las personas actuales son diferentes de los neandertales y los denisovanos, así como de los simios. Este catálogo contiene 31 389 cambios distintos simples de nucleótidos y 125 inserciones y supresiones de unos pocos nucleótidos. De estos, 96 cambian aminoácidos en proteínas, y quizá 3000 afectan a secuencias que regulan cómo se activan o desactivan los genes. Seguramente hay algunas diferencias de nucleótidos, sobre todo en partes repetitivas del genoma, que se nos han escapado, pero está claro que la «receta» genética para hacer un humano moderno no es muy larga. El siguiente gran reto es descubrir cuáles son las consecuencias de estos cambios.

George Church, un brillante innovador técnico de la Universidad de Harvard, ha sugerido que los científicos deberían usar nuestro catálogo para modificar una célula humana hasta su estado ancestral y luego usarla para recrear o «clonar» un neandertal. De hecho, ya cuando anunciamos que habíamos completado la secuenciación del genoma neandertal en el encuentro de la AAAS en 2009, George fue citado por el *New York Times* diciendo que «Se podía dar vida a un neandertal con la tecnología actual por unos 30 millones de dólares». Añadió que si alguien es-

taba dispuesto a proporcionar la financiación, él «podría ocuparse de ello». Para ser sinceros, reconoció que había problemas éticos en un proyecto así, pero sugirió que para evitarlos, se podía usar, no una célula humana, ¡sino una célula de chimpancé!

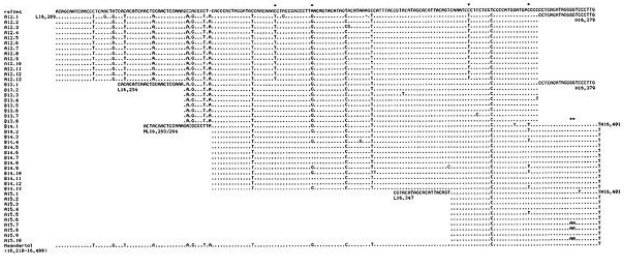
Descarto esto, así como afirmaciones posteriores con el mismo objetivo, por la tendencia de George a ser provocador. Sin embargo, señalan un dilema. ¿Cómo estudiamos rasgos específicos de los humanos —por ejemplo, el lenguaje o aspectos de la inteligencia— cuando por razones técnicas y éticas no podemos hacer lo que sugiere George? Una forma de seguir avanzando es, por un lado, introducir variantes genéticas humanas y neandertales en los genomas de células humanas y de simios que pueden usarse después no para clonar individuos, sino para estudiar su fisiología en un recipiente de plástico en el laboratorio, y por otro lado, introducir estas variantes en ratones de laboratorio. Nuestro laboratorio de Leipzig ya ha dado los primeros pasos en esta dirección. En 2002, descubrimos que la proteína hecha a partir de un gen llamado *FOXP2*, que el grupo de Tony Monaco en Oxford, Inglaterra, había demostrado que estaba implicado en la capacidad humana del lenguaje, difería en dos posiciones de aminoácidos de la misma proteína en simios y en casi todos los demás mamíferos[3]. Animados por el hecho de que la proteína *FOXP2* de los ratones es muy semejante a la proteína *FOXP2* del chimpancé, decidimos introducir los dos cambios humanos en el genoma del ratón. Le llevó varios años de duro trabajo a Wolfgang Enard, un estudiante con mucho talento, más tarde posdoctorando, luego jefe de grupo en nuestro laboratorio, hasta que nacieron los primeros ratones que hicieron la versión humana de la proteína *FOXP2*. Los resultados excedieron con mucho mis expectativas. Los sonidos que las crías producían a las dos semanas de edad cuando se las sacaba del nido eran sutil pero significativamente diferentes de los de sus compañeras de camada no humanizadas, lo que apoyaba la idea de que estos cambios tenían

algo que ver con la comunicación vocal. Este hallazgo ha llevado a mucho más trabajo que demuestra que los dos cambios afectan a cómo las neuronas extienden excrecencias para conectar con otras neuronas y cómo procesan señales en partes del cerebro que tienen que ver con el aprendizaje motor[4]. En este momento estamos colaborando con George Church para introducir estos cambios en células humanas que puedan diferenciarse en neuronas en el tubo de ensayo.

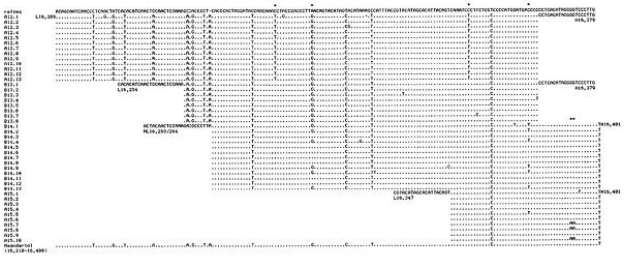
Aunque los dos cambios en *FOXP2* de hecho se comparten con neandertales y denisovanos[5], estos experimentos señalan cómo, en el futuro, podremos descifrar qué cambios son cruciales para lo que hace especiales a los seres humanos. Uno puede imaginarse poner estos cambios en líneas de células, y en ratones, solos y en diversas combinaciones, para «humanizar» y «neandertalizar» senderos bioquímicos o estructuras intracelulares, y luego estudiar sus efectos. Algún día, quizá podamos entonces entender qué separaba a la muchedumbre de reemplazamiento de sus contemporáneos arcaicos, y por qué, de todos los primates, los humanos modernos se expandieron por todos los rincones del mundo y remodelaron el entorno a escala global, tanto de forma intencionada como de forma involuntaria. Estoy convencido de que algunos aspectos de las respuestas a esta pregunta, quizá la cuestión más importante de la historia humana, yacen escondidos en los genomas antiguos que hemos secuenciado.

FOTOS

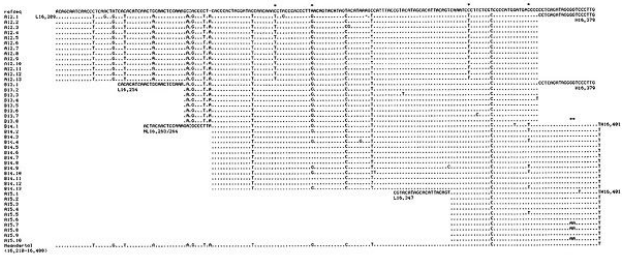
1.1 Esqueleto neandertal reconstruido (izquierda) y esqueleto humano actual (derecha). Ken Mowbray, Blaine Maley, Ian Tattersall, Gary Sawyer, American Museum of Natural History. <<



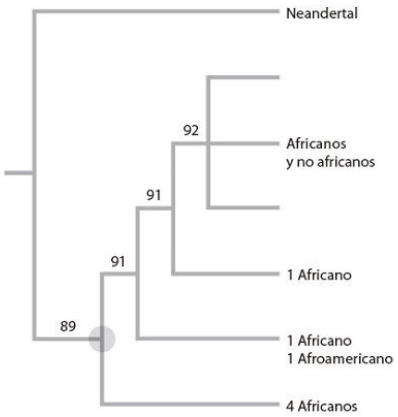
1.2 Reconstrucción de una muestra de mtDNA del neandertal del valle de Neander. Arriba se muestra una secuencia de referencia moderna. Cada línea de debajo representa una molécula clonada amplificada a partir del espécimen tipo de neandertal. Donde esas secuencias son idénticas a la secuencia de referencia, he puesto un punto; donde difieren del nucleótido, las he escrito. En la línea inferior está la secuencia del nucleótido de neandertal reconstruida. En cada posición, requerimos que se vea un cambio con respecto a la secuencia de referencia en una mayoría de los clones y en al menos dos experimentos de PCR independientes (los mostrados u otros). En Matthias Krings *et al*., «Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans», *Cell* 90, 19-30 (1997). <<



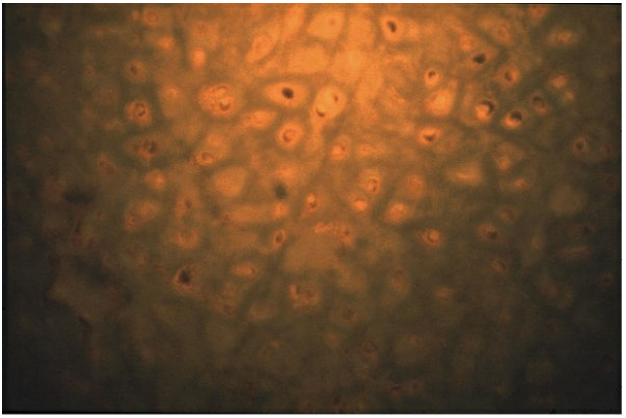
1.2 Reconstrucción de una muestra de mtDNA del neandertal del valle de Neander. Arriba se muestra una secuencia de referencia moderna. Cada línea de debajo representa una molécula clonada amplificada a partir del espécimen tipo de neandertal. Donde esas secuencias son idénticas a la secuencia de referencia, he puesto un punto; donde difieren del nucleótido, las he escrito. En la línea inferior está la secuencia del nucleótido de neandertal reconstruida. En cada posición, requerimos que se vea un cambio con respecto a la secuencia de referencia en una mayoría de los clones y en al menos dos experimentos de PCR independientes (los mostrados u otros). En Matthias Krings *et al*., «Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans», *Cell* 90, 19-30 (1997). <<



1.2 Reconstrucción de una muestra de mtDNA del neandertal del valle de Neander. Arriba se muestra una secuencia de referencia moderna. Cada línea de debajo representa una molécula clonada amplificada a partir del espécimen tipo de neandertal. Donde esas secuencias son idénticas a la secuencia de referencia, he puesto un punto; donde difieren del nucleótido, las he escrito. En la línea inferior está la secuencia del nucleótido de neandertal reconstruida. En cada posición, requerimos que se vea un cambio con respecto a la secuencia de referencia en una mayoría de los clones y en al menos dos experimentos de PCR independientes (los mostrados u otros). En Matthias Krings *et al*., «Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans», *Cell* 90, 19-30 (1997). <<



1.3 Árbol de mtDNA, que ilustra cómo los mtDNA de personas vivas en la actualidad rastrean su ascendencia hasta un mtDNA de ancestro común (el llamado Eva mitocondrial, indicado por un círculo) que existió más recientemente que el ancestro de mtDNA compartido con el neandertal. Las diferencias de nucleótidos se usan para inferir el orden de ramificación, y los números refieren el apoyo estadístico al orden de ramificación mostrado. Modificado a partir de Matthias Krings *et al.*, «Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans», *Cell* 90, 19-30 (1997). <<

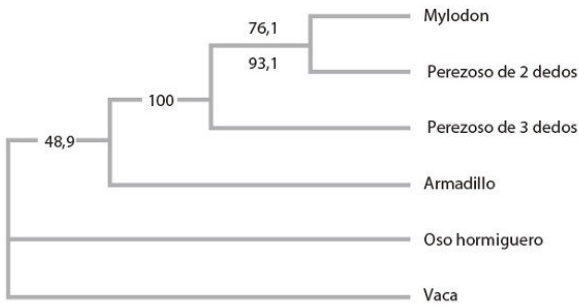


2.1 Imagen microscópica de tejido de cartílago de una momia egipcia de Berlín. En algunas lagunas, los restos celulares se mantienen iluminados, lo cual sugiere que puede haberse conservado DNA. Foto: S. Pääbo, Universidad de Upsala. <<

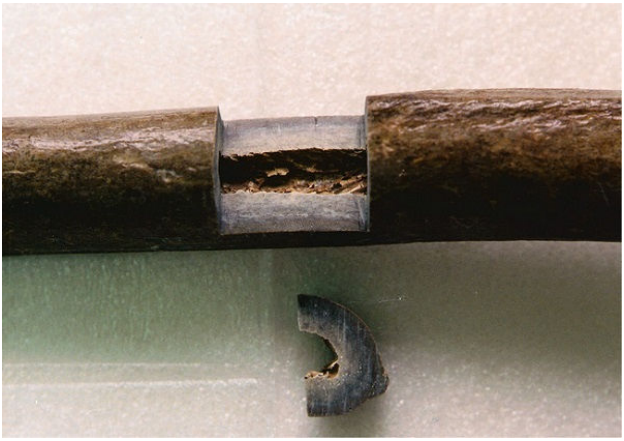
3.1 Una rata canguro de cien años de antigüedad y una actual del Museo de Zoología de los Vertebrados de la Universidad de California en Berkeley. Foto: UC en Berkeley. <<

4.1 Oliva y Matthias en el primer «cuarto limpio» de Múnich. Foto: Universidad de Múnich. <<

5.1 Reconstrucción de un esqueleto de perezoso de tierra. <<



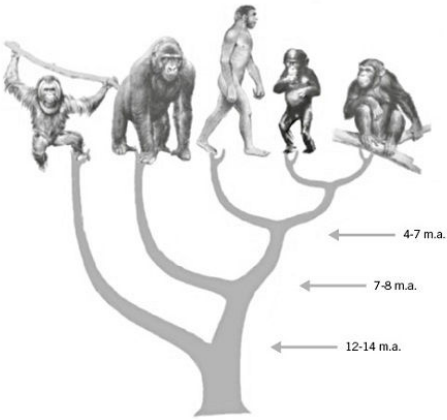
5.2 Árbol que muestra que el *Mylodon* está más estrechamente relacionado con el perezoso de dos dedos que con el de tres, lo que sugiere que los perezosos empezaron a vivir en los árboles dos veces durante su historia. En Matthias Höss *et al*., «Molecular phylogeny of the extinct ground sloth *Mylodon darwinii», Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93, 181-185 (1996). <<



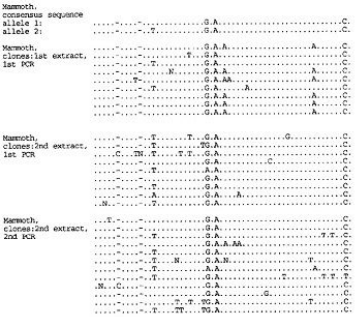
5.3 Hueso de la parte superior del brazo derecho del espécimen tipo neandertal con la muestra sacada por Ralf Schmitz en 1996. Foto: R. W. Schmitz LVR-LandesMuseum Bonn. <<

6.1 Cueva de Vindija en Croacia. Foto: J. Krause, MPI-EVA. <<

7.1. La más interior de nuestras habitaciones limpias en el Instituto Max Planck de Leipzig. Foto: MPI-EVA. <<



8.1 Árbol de humanos y grandes simios que muestra tiempos aproximados en que pudieron haber compartido ancestros comunes (aunque estas fechas son muy imprecisas). Modificado a partir de Henrik Kaessmann y Svante Paäbo, «The genetical history of humans and the great apes», *Journal of Internal Medicine* 251: 1-18 (2002). <<



9.1 Secuencias clonadas de DNA a partir de tres amplificaciones de un fragmento de gen nuclear de un mamut de 14 000 años de edad. La flecha señala la primera posición heterocigótica o SNP nunca antes vista del Pleistoceno tardío. En A. D. Greenwood *et al*., «Nuclear DNA sequences from Late Pleistocene megafauna», *Molecular Biology and Evolution* 16, 1466-1473 (1999). <<

12.1 El hueso 33.16 de la cueva de Vindija que utilizamos para secuenciar el genoma neandertal. Ha sido aplastado, presumiblemente para sacarle el nutritivo tuétano. Foto: Christine Verna, MPI-EVA. <<

12.1 El hueso 33.16 de la cueva de Vindija que utilizamos para secuenciar el genoma neandertal. Ha sido aplastado, presumiblemente para sacarle el nutritivo tuétano. Foto: Christine Verna, MPI-EVA. <<

12.2 Svante Pääbo en la entrada de la cueva de El Sidrón (Asturias) junto al equipo de excavación de la campaña arqueológica de 2007. Sentado en el centro, Svante Pääbo; de pie con gafas, Javier Fortea; detrás con los brazos cruzados, Carles Lazuela, biólogo de la Universidad de Barcelona; y detrás con barba, Marco de la Rasilla, actual director de estas excavaciones. En ese momento, 2007, Javier Fortea y Marco de la Rasilla eran codirectores de las excavaciones. © Equipo de Investigación de El Sidrón. <<

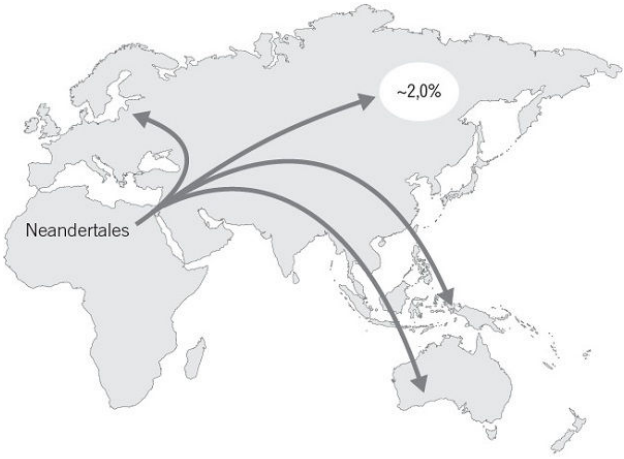
12.3 Svante Pääbo y Antonio Rosas, paleobiólogo del Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid, que establecieron un acuerdo de colaboración científica en el proyecto Genoma Neandertal, Madrid, 20 de marzo de 2007. Foto: Efe. <<

12.4 Pavao Rudan, Željko Kučan e Ivan «Johnny» Gušić, los tres miembros de la Academia Croata de Ciencias que hicieron posible que pudiéramos muestrear huesos neandertales de la cueva de Vindija. Foto: P. Rudan, HAZU. <<

12.5 Muestreado de un hueso neandertal con una fresa estéril. Foto: MPI-EVA. <<

13.1 El grupo del genoma neandertal en Leipzig en 2010. De izquierda a derecha: Adrian Briggs, Hernan Burbano, Matthias Meyer, Anja Heinze, Jesse Dabney, Kay Prüfer, yo, un esqueleto neandertal reconstruido, Janet Kelso, Tomi MariČiĆ, Qiaomei Fu, Udo Stenzel, Johannes Krause, Martin Kircher. Foto: MPI-EVA. <<

17.1 Reunión del consorcio en Dubrovnik, Croacia, en febrero de 2009. Foto: S. Pääbo, MPI-EVA. <<



18.1 Si los neandertales se mezclaron con los primitivos humanos modernos que dejaron África, y estos siguieron poblando el resto del mundo fuera de África, llevarían consigo DNA neandertal a regiones en las que los neandertales nunca habían existido. Por ejemplo, incluso en China, aproximadamente un 2% del DNA de personas procede de los neandertales. <<

22.1 Anatoly Derevianko con sus colegas. Foto: Bence Viola, MPI-EVA. <<

22.2 El pequeño hueso del dedo meñique descubierto en 2008 por Anatoly Derevianko y Michael Shunkov en la cueva de Denisova. Foto: MPI-EVA. <<

22.3 El molar de Denisova. Foto: Bence Viola, MPI-EVA. <<

23.1. Monty Slatkin, Anatoly Derevianko y David Reich, en una reunión en la cueva de Denisova en 2011. Foto: Bence Viola, MPI-EVA. <<

Notas

[1] R. L. Cann, Mark Stoneking y Allan C. Wilson, «Mitochondrial DNA and human evolution», *Nature* 325, 31-36 (1987). <<

[2] M. Krings *et al.*, «Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans», *Cell* 90, 19-30 (1997). <<

[1] S. Pääbo, «Über den Nachweis von DNA in altägyptischen Mumien», *Das Altertum* 30, 213-218 (1984). <<

[2] S. Pääbo, «Preservation of DNA in ancient Egyptian mummies», *Journal of Archaeological Sciences* 12, 411-417 (1985). <<

[1] S. Pääbo, «Molecular cloning of ancient Egyptian mummy DNA», *Nature* 314, 644-645 (1985). <<

[2] S. Pääbo y A. C. Wilson, «Polymerase chain reaction reveals cloning artefacts», *Nature* 334, 387-388 (1988). <<

[3] R. L. Cann, Mark Stoneking y A. C. Wilson, «Mitochondrial DNA and human evolution», *Nature* 325, 31-36 (1987). <<

[4] W. K. Thomas, S. Pääbo y F. X. Villablanca, «Spatial and temporal continuity of kangaroo-rat populations shown by sequencing mitochondrial-DNA from museum specimens», *Journal of Molecular Evolution* 31, 101-112 (1990). <<

[5] J. M. Diamond, «Old dead rats are valuable», *Nature* 347, 334-335 (1990). <<

[6] S. Pääbo, J. A. Gifford y A. C. Wilson, «Mitochondrial-DNA sequences from a 7,000-year-old brain», *Nucleic Acids Research* 16, 9775-9787 (1988). <<

[7] R. H. Thomas *et al.*, «DNA phylogeny of the extinct marsupial wolf», *Nature* 340, 465-467 (1989). <<

[8] S. Pääbo, «Ancient DNA. Extraction, characterization, molecular-cloning, and enzymatic amplification», *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 86, 1939-1943 (1989). <<

[1] S. Pääbo, R. G. Higuchi y A. C. Wilson, «Ancient DNA and the polymerase chain reaction», *Journal of Biological Chemistry* 264, 9709-9712 (1989). <<

[2] G. Del Pozzo y J. Guardiola, «Mummy DNA fragment identified», *Nature* 339, 431-432 (1989). <<

[3] T. Lindahl, «Recovery of antediluvian DNA», *Nature* 365, 700 (1993). <<

[4] S. Pääbo, R. G. Higuchi y A. C. Wilson, «Ancient DNA and the polymerase chain reaction», *Journal of Biological Chemistry* 264, 9709-9712 (1989). <<

[5] E. Hagelberg y J. B. Clegg, «Isolation and characterization of DNA from archaeological bone», *Proceedings of the Royal Society B* 244:1309, 45-50 (1991). <<

[6] M. Höss y S. Pääbo, «DNA extraction from Pleistocene bones by a silica-based purification method», *Nucleic Acids Research* 21:16, 3913-3914 (1993). <<

[7] M. Höss y S. Pääbo, «Mammoth DNA sequences», *Nature* 370, 333 (1994); Erika Hagelberg *et al.*, «DNA from ancient mammoth bones», *Nature* 370, 333-334 (1994). <<

[8] M. Höss *et al.*, «Excrement analysis by PCR», *Nature* 359, 199 (1992). <<

[9] E. M. Golenberg *et al.*, «Chloroplast DNA sequence from a Miocene Magnolia species», *Nature* 344, 656-658 (1990). <<

[10] S. Pääbo y A. C. Wilson, «Miocene DNA sequences, a dream come true?», *Current Biology* 1, 45-46 (1991). <<

[11] A. Sidow *et al.*, «Bacterial DNA in Clarkia fossils», *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 333, 429-433 (1991). <<

[12] R. DeSalle *et al.*, «DNA sequences from a fossil termite in Oligo-Miocene amber and their phylogenetic implications», *Science* 257, 1933-1936 (1992). <<

[13] R. J. Cano *et al.*, «Enzymatic amplification and nucleotide sequencing of DNA from 120-135-million-year-old weevil», *Nature* 363, 536-538 (1993). <<

[14] H. N. Poinar *et al.*, «DNA from an extinct plant», *Nature* 363, 677 (1993). <<

[15] T. Lindahl, «Instability and decay of the primary structure of DNA», *Nature* 362, 709-715 (1993). <<

[16] S. R. Woodward, N. J. Weyand y M. Bunnell, «DNA sequence from Cretaceous Period bone fragments», *Science* 266, 1229-1232 (1994). <<

[17] H. Zischler *et al.*, «Detecting dinosaur DNA», *Science* 268, 1192-1193 (1995). <<

[1] H. Prichard, *Through the Heart of Patagonia*. Nueva York: D. Appleton and Company, 1902. <<

[2] M. Höss *et al.*, «Molecular phylogeny of the extinct ground sloth *Mylodon darwinii*», *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93, 181-185 (1996). <<

[3] O. Handt *et al.*, «Molecular genetic analyses of the Tyrolean Ice Man», *Science* 264, 1775-1778 (1994). <<

[4] O. Handt *et al.*, «The retrieval of ancient human DNA sequences», *American Journal of Human Genetics* 59:2, 368-376 (1996). <<

[5] De hecho, incluso mientras escribo esto, hay varios grupos que están usando la PCR para estudiar el mtDNA de restos arqueológicos humanos sin describir con claridad cómo distinguen las secuencias de DNA contaminante de las endógenas. Algunas de las secuencias que determinan son casi seguro correctas, pero de la misma manera, otras son casi seguro incorrectas. <<

[1] I. V. Ovchinnikov *et al.*, «Molecular analysis of Neanderthal DNA from the northern Caucasus», *Nature* 404, 490-493 (2000). <<

[2] M. Krings *et al.*, «A view of Neandertal genetic diversity», *Nature Genetics* 26, 144-146 (2000). <<

[1] H. Kaessmann *et al*., «DNA sequence variation in a non-coding region of low recombination on the human X chromosome», *Nature Genetics* 22, 78-81 (1999); H. Kaessmann, V. Wiebe, y S. Pääbo, «Extensive nuclear DNA sequence diversity among chimpanzees», *Science* 286, 1159-1162 (1999); H. Kaessmann *et al*., «Great ape DNA sequences reveal a reduced diversity and an expansion in humans», *Nature Genetics* 27, 155-156 (2001). <<

[2] D. Serre *et al*., «No evidence of Neandertal mtDNA contribution to early modern humans», *PLoS Biology* 2, 313-217 (2004). <<

[3] M. Currat y L. Excoffier, «Modern humans did not admix with Neandertals during their range expansion into Europe», *PLoS Biology* 2, 2264-2274 (2004). <<

[1] A. D. Greenwood *et al.*, «Nuclear DNA sequences from Late Pleistocene megafauna», *Molecular Biology and Evolution* 16, 1466-1473 (1999). <<

[1] H. N. Poinar *et al.*, «Molecular coproscopy: Dung and diet of the extinct ground sloth Nothrotheriops shastensis», *Science* 281, 402-406 (1998). <<

[2] S. Vasan *et al.*, «An agent cleaving glucose-derived protein cross-links in Vitro and in vivo», *Nature* 382, 275-278 (1996). <<

[3] H. Poinar *et al.*, «Nuclear gene sequences from a Late Pleistocene sloth coprolite», *Current Biology* 13, 1150-1152 (2003). <<

[4] J. P. Noonan *et al.*, «Genomic sequencing of Pleistocene cave bears», *Science* 309, 597-600 (2005). <<

[5] M. Stiller *et al.*, «Patterns of nucleotide misincorporations during enzymatic amplification and direct large-scale sequencing of ancient DNA», *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103, 13578-13584 (2006). <<

[6] H. Poinar *et al.*, «Metagenomics to paleogenomics: Large-scale sequencing of mammoth DNA», *Science* 311, 392-394 (2006). <<

[7] Ver nota 5 arriba. <<

[1] J. P. Noonan *et al.*, «Sequencing and analysis of Neandertal genomic DNA», *Science* 314, 1113-1118 (2006); R. E. Green *et al.*, «Analysis of one million base pairs of Neanderthal DNA», *Nature* 444, 330-336 (2006). <<

[1] Después de nuestra publicación en *Nature*, supimos que sería más apropiado llamarlo Vi-33.16, según un sistema de numeración más reciente. <<

[2] R. W. Schmitz *et al.*, «The Neandertal type site revisited: Interdisciplinary investigations of skeletal remains from the Neander Valley, Germany», *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99, 13342-13347 (2002). <<

[3] A. W. Briggs *et al.*, «Patterns of damage in genomic DNA sequences from a Neandertal», *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 104, 14616-14621 (2007). <<

[1] T. Marič̣ić y Svante Pääbo, «Optimization of 454 sequencing library preparation from small amounts of DNA permits sequence determination of both DNA strands», *BioTechniques* 46, 5157 (2009). <<

[2] J. D. Wall y Sung K. Kim, «Inconsistencies in Neandertal genomic DNA sequences», *PLoS Genetics* 10:175 (2007). <<

[3] A. W. Briggs *et al.*, «Patterns of damage in genomic DNA sequences from a Neandertal», *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 104, 14616-14621 (2007). <<

[1] R. E. Green *et al.*, «The Neandertal genome and ancient DNA authenticity», *EMBO Journal* 28, 2494-2503 (2009). <<

[1] R. E. Green *et al.*, «The Neandertal genome and ancient DNA authenticity», *EMBO Journal* 28, 2494-2503 (2009). <<

[1] N. Patterson *et al.*, «Genetic evidence for complex speciation of humans and chimpanzees», *Nature* 441, 1103-1108 (2006). <<

[1] M. Tomasello, *Origins of Human Communication* (Cambridge, MA: MIT Press). <<

[2] Juego de palabras en inglés: «Human children "ape" whereas apes do not "ape"», donde se juega con el doble significado de «ape», «simio» e «imitar» *[N. del E.]*. <<

[1] R. E. Green *et al*., «A draft sequence of the Neandertal genome», *Science* 328, 710-722 (2010). <<

[2] Traducción mía del francés. <<

[3] L. Abi-Rached *et al*., «The shaping of modern human immune systems by multiregional admixture with archaic humans», *Science* 334, 89-94 (2011). <<

[1] J. Krause *et al.*, «Neanderthals in central Asia and Siberia», *Nature* 449, 902-904 (2007). <<

[2] J. Krause *et al.*, «The complete mtDNA of an unknown hominin from Southern Siberia», *Nature* 464, 894-897 (2010). <<

[1] D. Reich *et al.*, «Genetic history of an archaic hominin group from Denisova Cave in Siberia», *Nature* 468, 1053-1060 (2010). <<

[1] S. Sankararaman *et al.*, «The date of interbreeding between Neandertals and modern humans», *PLoS Genetics* 8:1002947 (2012). <<

[2] M. Meyer, «A high coverage genome sequence from an archaic Denisovan individual», *Science* 338, 222-226 (2012). <<

[3] W. Enard *et al.*, «Molecular evolution of FOXP2, a gene involved in speech and language». *Nature* 418, 869-872 (2002). <<

[4] W. Enard *et al.*, «A humanized version of Foxp2 affects cortico-basal ganglia circuits in mice», *Cell* 137, 961-971 (2009). <<

[5] J. Krause *et al.*, «The derived FOXP2 variant of modern humans was shared with Neandertals», *Current Biology* 17, 1908-1912 (2007). <<

ÍNDICE

El hombre de Neandertal 2
Prefacio 5
Capítulo 1. Neardental ex machina 6
Capítulo 2. Momias y moléculas 33
Capítulo 3. La amplificación del pasado 51
Capítulo 4. Dinosaurios en el laboratorio 66
Capítulo 5. Frustraciones humanas 84
Capítulo 6. Una conexión croata 101
Capítulo 7. Un nuevo hogar 108
Cápítulo 8. Controversias multierregionales 123
Capítulo 9. Test nucleares 134
Capítulo 10. Hacia lo nuclear 142
Capítulo 11. Inicio del proyecto Genoma 160
Capítulo 12. Huesos duros 178
Capítulo 13. El diablo está en los detalles 194
Capítulo 14. Cartografía del genoma 206
Capítulo 15. De los huesos al genoma 214
Capítulo 16. ¿Flujo de genes? 227
Capítulo 17. Primeras revelaciones 239
Capítulo 18. ¡Flujo de genes! 248
Capítulo 19. La muchedumbre de reemplazamiento 263
Capítulo 20. ¿Esencia humana? 273

Capítulo 21. La publicación del genoma 286
Capítulo 22. Un dedo muy peculiar 301
Capítulo 23. El pariente neandertal 317
Epílogo 334
Fotos 338
Ilustración 1.1 339
Ilustración 1.2 340
Ilustración 1.2 341
Ilustración 1.2 342
Ilustración 1.3 343
Ilustración 2.1 344
Ilustración 3.1 345
Ilustración 4.1 346
Ilustración 5.1 347
Ilustración 5.2 348
Ilustración 5.3 349
Ilustración 6.1 350
Ilustración 7.1 351
Ilustración 8.1 352
Ilustración 9.1 353
Ilustración 12.1 354
Ilustración 12.1 355
Ilustración 12.2 356
Ilustración 12.3 357
Ilustración 12.4 358
Ilustración 12.5 359
Ilustración 13.1 360
Ilustración 17.1 361

Ilustración 18.1 362
Ilustración 22.1 363
Ilustración 22.2 364
Ilustración 22.3 365
Ilustración 23.1 366
Notas 367